

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ОСНОВЫ ИММУНОЛОГИИ

И.И. Генералов, Д.К. Новиков, Н.В. Железняк

*Допущено министерством образования Республики Беларусь в качестве
учебного пособия для иностранных студентов учреждений высшего
образования по специальностям «Лечебное дело», «Стоматология»,
«Фармация»*

Витебск

2020

УДК 577.27(07)

ББК 52.7я73

Г34

Рецензенты:

Кафедра клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии

(зав. кафедрой - д.м.н. профессор И.А. Новикова)

УО «Гомельский государственный медицинский университет»

А.И. Жмакин, к.м.н., доцент

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

И.И. Генералов

Г34 Основы иммунологии. Учебное пособие. / И.И. Генералов, Д.К. Новиков, Н.В. Железняк. – Витебск, – ВГМУ, 2020. – 219 с.

ISBN

Учебное пособие «Основы иммунологии» написано в соответствии с типовой учебной программой по микробиологии, иммунологии и вирусологии.

Рассматриваются вопросы общей иммунологии, базовые вопросы клинической иммунологии, методы иммунодиагностики.

Предназначается для студентов учреждений высшего медицинского образования, обучающихся по специальностям «Лечебное дело», «Стоматология», «Фармация».

УДК 577.27(07)

ББК 52.7я73

© Генералов И.И., Новиков Д.К., Н.В. Железняк, 2020

© Витебский государственный ордена Дружбы Народов
медицинский университет, 2020

ISBN

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список основных сокращений	4
Введение	7
Глава 1. Основные определения иммунологии. Виды иммунитета. Структура и функции системы иммунитета. Цитокины. CD-молекулы. Лимфоидная система: дифференцировка субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, их функции	8
Глава 2. Антигены	36
Глава 3. Иммуноглобулины и антитела	50
Глава 4. Клеточный и гуморальный врожденный иммунитет. Toll-like рецепторы. Фагоциты и фагоцитоз. Естественные киллерные клетки. НКТ-клетки. Врожденные лимфоидные клетки. Система комплемента	62
Глава 5. Динамика иммунного ответа	86
Глава 6. Иммунные и неиммунные механизмы защиты в ротовой полости (для студентов стоматологического факультета)	103
Глава 7. Иммунитет и инфекции	110
Глава 8. Иммунопатология. Аллергия и аутоиммунные заболевания. Первичные и вторичные иммунодефициты	123
Глава 9. Иммунодиагностика. Оценка иммунного статуса. Серологические реакции, их практическое применение	169
Глава 10. Иммунопрофилактика и иммунотерапия	205

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ	Антиген(ы)
АДА	Аденозиндезаминаза
АЗКЦ	Антителозависимая клеточная цитотоксичность
АИЗ	Аутоиммунные заболевания
АПК	Антигенпредставляющая клетка
АСИТ	Аллерген специфическая иммунотерапия
АТ	Антитело(а)
АФК	Активные формы кислорода
АФП	Альфа-фетопротейн
БАЛТ	Бронхоассоциированная лимфоидная ткань
БВРС	Ближневосточный респираторный синдром
ВИЧ	Вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГКГ или	Главный комплекс гистосовместимости или
МНС	Major histocompatibility complex
Г-КСФ	Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ГМ-КСФ	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГСК	Гемопоетическая стволовая клетка
ГЧЗТ	Гиперчувствительность замедленного типа
ГЧНТ	Гиперчувствительность немедленного типа
ДК	Дендритные клетки
ЕКК	Естественные киллерные клетки
ИД	Иммунодефицит
ИГ	Иммуноглобулин(ы)
ИК	Иммунные комплекс(ы)
ИЛ	Интерлейкин
ИО	Иммунный ответ
ИП	Иммунопрофилактика
ИС	Иммунный статус
ИТ	Иммунотерапия
ИФА	Иммуноферментный анализ
ИФН	Интерферон
ИФР	Инсулиноподобный фактор роста
кД	Тыс. дальтон или килодальтон
КИР	Киллинг-ингибирующий рецептор
ЛПИА	Латеральный проточный иммуноанализ
ЛПС	Липополисахарид

МАК	Мембраноатакующий комплекс (комплемента)
МАЛТ	Мукозно-ассоциированная лимфоидная ткань
мАТ	Моноклональные антитела
МИФ	Метод иммунофлюоресценции
М-КСФ	Макрофагальный колониестимулирующий фактор
ММ	Молекулярная масса
МСЛ	Маннозосвязывающий лектин
НАЛТ	Назально-ассоциированная лимфоидная ткань
НВЛ, NETs	Нейтрофильные внеклеточные ловушки, neutrophil extracellular traps
НПВС	Нестероидные противовоспалительные средства
НЦМ	Нитроцеллюлозная мембрана
ОВИД	Общий переменный иммунодефицит
ОВИН	Общая переменная иммунная недостаточность
ОИС	Оценка иммунного статуса
ОРР	Образ-распознающие рецепторы
ПСА	Простатспецифический антиген
ПНФ	Пуриннуклеозидфосфорилаза
РА	Реакция агглютинации
РАСТ	Радиоаллергосорбентный тест
РИА	Радиоиммуноанализ
РПА	Реакция пассивной гемагглютинации
РСК	Реакция связывания комплемента
РТПХ	Реакция «трансплантат против хозяина»
СИ	Система иммунитета
СПИД	Синдром приобретенного иммунодефицита
СКВ	Системная красная волчанка
ТКИД	Тяжелый комбинированный иммунодефицит
ТКР (TCR)	Т-клеточный рецептор
ТОРС	Тяжелый острый респираторный синдром
ТТГ	Тиреотропный гормон
ТФРβ	Трансформирующий фактор роста бета
ФАТ	Фактор активации тромбоцитов
ФДК	Фолликулярные дендритные клетки
ФНОα	Фактор некроза опухолей альфа
ФНОβ	Фактор некроза опухолей бета или лимфотоксин
ЦИК	Циркулирующие иммунные комплексы
ВКР (BCR)	В-клеточный рецептор
СРБ	С-реактивный белок
CD	Clusters of differentiation,

	кластеры дифференцировки
DAF	Decay-accelerating factor – фактор, ускоряющий деградацию (C3 конвертазы системы комплемента)
DAMP	Damage-associated molecular patterns – молекулярные образы повреждения
HLA	Human Leukocyte Antigens – система человеческих лейкоцитарных антигенов (главный комплекс антигенов гистосовместимости человека)
ICAM	intercellular adhesion molecule – молекула межклеточной адгезии
Ig	Иммуноглобулин
NKT клетки	Natural killer T cells или естественные киллерные Т-клетки
PAMP	Pathogen -associated molecular patterns – молекулярные образы патогенов
TLR	Toll-like рецепторы

ВВЕДЕНИЕ

Современная *иммунология* – это наука, изучающая взаимодействия клеток и молекул *системы иммунитета* (СИ) с биологически активными агентами – *антигенами*, исследующая их взаимоотношения между собой и с другими клетками и биоактивными молекулами в организме, приводящими к изменениям гомеостаза.

Взаимодействия биомакромолекул как свободных (циркулирующих), так и клеточно-связанных являются основой для развития различных феноменов иммунитета – от невосприимчивости к микроорганизмам, до гиперчувствительности к аллергенам.

К настоящему времени стало очевидным, что от клеток системы иммунитета зависят, с одной стороны, резистентность организма к инфекции или опухолевой трансформации, а с другой – повреждение, воспаление. Они определяют эффективность, норму и патологию воспалительной реакции как на инфекционные, так и неинфекционные агенты. Избыточные реакции клеток системы иммунитета приводят к развитию гиперчувствительности: аллергии и аутоиммунитету, сниженные – к недостаточной устойчивости макроорганизма к патогенам, развитию инфекций и опухолей.

Предложенные иммунологией высокоэффективные методы *иммунодиагностики*, *иммунотерапии* и *иммунореабилитации* заболеваний широко применяются в современной медицине – в клинике инфекционных болезней, терапии, хирургии, онкологии, акушерстве и гинекологии, педиатрии, клинике глазных и ЛОР-болезней, неврологии и психиатрии, равно как и во многих других медицинских областях.

ГЛАВА 1. ОСНОВНЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОЛОГИИ. ВИДЫ ИММУНИТЕТА. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА. ЦИТОКИНЫ. CD-МОЛЕКУЛЫ. ЛИМФОИДНАЯ СИСТЕМА: ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СУБПОПУЛЯЦИЙ Т- и В-ЛИМФОЦИТОВ, ИХ ФУНКЦИИ

Иммунология – наука, изучающая *иммунитет*.

Иммунитет – это эволюционно обусловленная совокупность реакций взаимодействия между *системой иммунитета* и *специфическими биологически активными агентами (антигенами)*.

Данные реакции направлены на *сохранение фенотипического постоянства внутренней среды* организма (поддержание *гомеостаза* и *антигенной индивидуальности*).

Виды и феномены иммунитета

Понятие «*иммунитет*» часто ассоциируют с резистентностью к инфекции – бактериям, вирусам, грибам, простейшим, с защитой организма от заболеваний. Однако существуют разнообразные «неиммунитетные» способы защиты от инфекций как на социальном уровне (методы асептики, антисептики, дезинфекции, другие противоэпидемические мероприятия), так и на уровне отдельного организма и вида в целом (механизмы видовой невосприимчивости, барьерная функция эпителия и слизистых оболочек и др.).

Видовая (наследственная) невосприимчивость – это вариант неспецифической резистентности организма, генетически обусловленный *особенностями метаболизма* данного вида. Он связан с отсутствием условий, необходимых для размножения патогена в организме представителей вида. Например, на мембранах клеток могут отсутствовать рецепторы к возбудителям. Как результат, животные невосприимчивы к ряду болезней человека (сифилис, гонорея, дизентерия), и наоборот – люди устойчивы к возбудителям чумы собак или куриной холеры. Данный вариант резистентности не относится к истинному иммунитету, так как он не связан с активностью системы иммунитета.

Исходя из механизмов развития, *основными видами* иммунитета являются *врожденный* и *приобретенный* иммунитет.

Каждый из них включает реакции **клеточного** и **гуморального иммунитета**. Они, в свою очередь, могут быть **специфическими** и **неспецифическими**.

Как следует из названия, **клеточный иммунитет** поддерживается **клетками**, входящими в систему иммунитета, **гуморальный иммунитет** обеспечивается **растворимыми факторами** иммунитета – биомолекулами, присутствующими в биологических жидкостях организма (крови, слюне, секрете слизистых, тканевой жидкости и т.д.)

Врожденный иммунитет функционирует в организме постоянно **независимо от предварительного контакта** системы иммунитета **с антигенами**. Базовые клеточные и гуморальные реакции врожденного иммунитета действуют с момента рождения. В большей мере они являются **неспецифическими** (т.е. не зависят от специфичности антигенов) или имеют **ограниченную специфичность**. В последнем случае факторы врожденного иммунитета (клетки и молекулы) реагируют на общие структурные компоненты, которые имеются у многих возбудителей.

К клеточным элементам врожденного иммунитета относятся **фагоциты** (моноциты и макрофаги, все полиморфноядерные лейкоциты), **дендритные клетки**, естественные киллерные клетки (**ЕК-клетки**), тромбоциты. Они проявляют свою активность в крови и лимфе, во всех тканях, полостях, могут выходить на поверхность слизистых оболочек и там выполнять свою защитную функцию.

Среди гуморальных факторов важную роль играют **естественные антитела**. Такие антитела исходно присутствуют в организме в сравнительно небольших количествах. Они полиспецифичны и направлены против многих бактерий и вирусов.

К неспецифическим гуморальным факторам иммунитета также относятся **цитокины**, система **комплемента**, С-реактивный белок, фибронектин, лактоферрин, гидролитические ферменты и др.

Многие исследователи к элементам врожденного иммунитета относят также механизмы **естественной неспецифической резистентности организма**. Они весьма многообразны и включают следующие основные факторы: защита организма от внешних агентов наружными покровами (барьерная функция кожи и слизистых оболочек), механические и физические механизмы (дыхание, кашель, чихание, слезотечение, слущивание эпителия, движение ресничек и секретов слизистых оболочек – мукоцилиарный клиренс), бактерицидное действие химических веществ (воздействие соляной

кислоты желудочного сока, жирных кислот, молочной кислоты), работа пищеварительных ферментов, органов выделения и т.д.

Однако данные механизмы в большей степени относятся к неспецифической «неиммунитетной» резистентности, так как не связаны с действием клеточных или гуморальных факторов самой системы иммунитета.

Приобретенный (*адаптивный, специфический*) **иммунитет** возникает в течение жизни *в результате стимуляции* клеток системы иммунитета специфическими **антигенами**.

Клетками специфического приобретенного иммунитета являются Т- и В-лимфоциты, несущие на мембране антигенспецифические рецепторы.

Также приобретенный иммунитет возникает *после получения готовых иммунных факторов*. Поэтому он бывает *естественным* и *искусственным*, каждый из которых может быть *активным* и *пассивным*.

Естественный активный иммунитет появляется в результате контакта с возбудителем (*после перенесенного заболевания* или после скрытого взаимодействия без проявления симптомов болезни).

Естественный пассивный иммунитет возникает в результате передачи *готовых защитных факторов* (антител, иммуноглобулинов) *через плаценту* к плоду при беременности (трансплацентарный иммунитет) или *с материнским молоком* к ребенку после рождения.

Искусственный активный иммунитет развивается после введения в организм *вакцин и анатоксинов*, которые содержат микроорганизмы или выделенные из них субстанции-антигены.

Искусственный пассивный иммунитет создается после введения в организм *готовых антител* и *иммунных сывороток*, а также *иммунных клеток*. Специфические антитела содержатся в сыворотке крови иммунизированных доноров или животных, а также могут быть получены биотехнологическим и генно-инженерным путем (гибридная технология).

Особенности приобретенного иммунитета:

1) он специфичен к антигенам инфекционной и неинфекционной природы;

2) его специфичность определяют иммунные Т- и В-лимфоциты, несущие специфические рецепторы к АГ, и/или специфические антитела, циркулирующие в биологических жидкостях;

3) активный приобретенный иммунитет сопровождается формированием иммунологической памяти; он усиливается при повторных контактах с антигеном.

Также различают *местный* и *системный* иммунитет.

Местный иммунитет развивается и поддерживается *локально*, в отдельных тканях (например, слизистых оболочках), полостях или органах. Его функцию выполняют специализированные структуры местного клеточного и гуморального иммунитета, например резидентные иммунные клетки (макрофаги, лимфоциты), секреторные IgA и др.

Системный (или *общий*) **иммунитет** функционирует на *уровне организма в целом*. В его активации и поддержании участвуют все структуры системы иммунитета, однако в первую очередь он зависит от иммунных клеток, циркулирующих в крови и лимфе между органами и тканями (Т- и В-лимфоциты, моноциты, гранулоциты, ЕК-клетки). Системный иммунитет активируется при тяжелых распространенных инфекционных процессах с проникновением возбудителей и их токсинов в кровь и лимфу.

В зависимости от *природы антигена*, стимулирующего иммунные реакции, различают *противоинфекционный* и *неинфекционный* иммунитет.

Среди видов **противоинфекционного иммунитета** различают *антибактериальный*, *антитоксический*, *противовирусный*, *противогрибковый* и *противопаразитарный* иммунитет.

Противоинфекционный иммунитет может быть *стерильным* и *нестерильным*.

Стерильный противоинфекционный иммунитет не требует для своего поддержания постоянной антигенной стимуляции и *сохраняется* длительное время даже *после полного исчезновения возбудителя* из организма (например, после перенесенной кори специфический противовирусный иммунитет сохраняется пожизненно).

Нестерильный иммунитет поддерживается на должном уровне только *в присутствии возбудителя* (его антигенов) в необходимых минимальных количествах. Примером нестерильного иммунитета является антибактериальный иммунитет при туберкулезе.

Неинфекционный иммунитет включает различные варианты иммунных реакций, направленных *против антигенов неинфекционной природы*.

Различают несколько видов *неинфекционного иммунитета*.

1) **Репродуктивный иммунитет** в системе «мать – плод» представляет собой совокупность реакций организма матери на антигены плода, поскольку плод имеет антигенные отличия за счет продуктов генов, полученных от отца.

2) **Трансплантационный иммунитет** возникает при пересадке органов и тканей от донора к реципиенту, а также в случаях переливания крови разных групп и при иммунизации лейкоцитами. Эти реакции связаны с наличием индивидуальных наборов молекул на поверхности эритроцитов (антигены групп крови), лейкоцитов и других клеток организма, несущих мембранные человеческие лейкоцитарные антигены (система HLA). Набор этих молекул идентичен только у однояйцевых близнецов.

3) **Противоопухолевый иммунитет** направлен против антигенов опухолевых клеток.

4) **Аутоиммунитет** – это реакции системы иммунитета на собственные антигены (белки, нуклеопротеины, липопротеины, гликопротеины). Аутоиммунитет обусловлен нарушением распознавания «своих» молекул, когда они воспринимаются системой иммунитета как «чужие» и атакуются системой иммунитета.

Помимо данных вариантов, неинфекционный иммунитет также стимулируется при контакте с разнообразными внешними антигенами неинфекционного происхождения (растительными, животными, химическими). В ряде случаев это может приводить к развитию **аллергии**.

Результатом активации обширного комплекса реакций врожденного и приобретенного иммунитета могут быть различные **феномены** (конечные проявления) **иммунитета**. Одни из них являются полезными, приспособительными, другие обуславливают патологию. К первым относятся:

– *противоинфекционный иммунитет* с защитой макроорганизма от инфекционных патогенов (бактерий, вирусов и др.);

– *иммунологическая толерантность* – «терпимость», неотвечаемость системы иммунитета в первую очередь в отношении собственных тканей и органов (толерантность «к своему»).

– «*иммунологический надзор*» – удаление из организма мутировавших клеток и/или изменивших свой фенотип после опухолевой трансформации, повреждения или заражения.

Другие феномены иммунитета могут приводить к развитию патологии. К ним относятся:

– *гиперчувствительность* – повышенная иммунная реакция на антигены, которая служит причиной двух видов заболеваний: *аллергических* (аллергия) – реакция на экзогенные антигены-аллергены, и *аутоиммунных* – реакция на эндогенные, собственные биомолекулы. При аутоиммунных болезнях «свои» молекулы узнаются системой иммунитета как «чужие» и на них развиваются аутоиммунные реакции; система иммунитета в норме не отвечает на «свое» и отторгает «чужое»;

– *анергия*, т.е. отсутствие необходимой реакции на антигены (вариант толерантности); она, обусловлена недостаточностью различных звеньев иммунитета.

В основе приобретенного иммунитета лежит феномен *иммунологической памяти*. Сущность его заключается в том, что в результате первичного взаимодействия системы иммунитета с антигеном образуются долгоживущие клетки памяти (Т- и В-лимфоциты), несущие рецепторы с повышенным сродством к антигену. Тем самым при последующих контактах с данным АГ интенсивность иммунных реакций многократно увеличивается, что приводит к быстрой инактивации и удалению АГ из организма. Иммунологическая память обуславливает феномены противоинфекционного иммунитета, толерантности и гиперчувствительности.

Реакции иммунитета всегда направлены на поддержание фенотипического гомеостаза организма и элиминацию чужеродных молекул, при этом интенсивные иммунные реакции сопровождаются *воспалением* с риском повреждения собственных тканей. Однако базовым для системы иммунитета является постоянный «фоновый» уровень активности. На физиологическом уровне такая система работает непрерывно, формируя новые клетки с продукцией иммуноглобулинов, цитокинов, ферментов. В каждый момент времени ее «фоновая» функция поддерживается находящимися в организме компонентами микробиома – бактериями, вирусами, грибами. Активное взаимодействие с ними, их элиминация и предупреждение распространения, «надзор» за ними – необходимое условие для существования здорового организма и показатель нормальной *элиминирующей* функции системы иммунитета.

Иммунный ответ – это частный случай реакции системы иммунитета на патоген, в которой участвуют все лейкоциты и гуморальные факторы естественного иммунитета. Как правило, он начинается в месте проникновения инфекта или другого антигена,

характеризуется воспалительной реакцией, сопровождается образованием антител и иммунных Т-лимфоцитов, а заканчивается формированием иммунологической памяти к антигенам. Однако такой полный иммунный ответ развивается не всегда; реакция на антиген может прекратиться на уровне неспецифической резистентности или неспецифического иммунитета, если она достаточно эффективна.

Структура системы иммунитета

Система иммунитета – это совокупность молекул, клеток, тканей и органов, осуществляющих иммунные реакции.

На уровне организма выделяют *центральные* и *периферические* органы иммунитета.

К *центральным органам* системы иммунитета относятся *красный костный мозг* и *тимус*.

Периферические органы системы иммунитета представлены скоплениями лимфоидной ткани, распределенными по организму. К ним относятся *селезенка, лимфатические узлы, миндалины*, лимфоидные образования кожи, лимфы и тканей. Важнейшую роль в иммунитете играют многочисленные лимфоидные структуры слизистых, которые объединяются в *мукозно-ассоциированную лимфоидную ткань (МАЛТ)*. МАЛТ включает лимфоидную ткань кишечника (пейеровы бляшки, солитарные фолликулы, лимфоидные образования аппендикса и др.), бронхоассоциированную лимфоидную ткань (*БАЛТ*), назально-ассоциированную лимфоидную ткань (*НАЛТ*), конъюнктива-ассоциированную лимфоидную ткань и другие аналогичные элементы.

Мукозная лимфоидная ткань находится в тесном контакте с эпителием, через который проникают антигены, и который может участвовать в представлении антигенов. Другой ее особенностью является отличие в субпопуляционном спектре лимфоцитов и их функциях. Местами общения лимфоцитов и бактерий в кишечнике служит слизистая оболочка и эпителий, покрывающий пейеровы бляшки, а в бронхах – эпителий, покрывающий места расположения бронхоассоциированной лимфоидной ткани, в миндалинах – эпителий крипт. Эти места эпителия всегда инфильтрированы лимфоцитами, которые взаимодействуют с антигенами микроорганизмов.

На клеточном и молекулярном уровнях система иммунитета объединяет несколько самостоятельных систем (или подсистем), активно взаимодействующих и реагирующих как единое целое:

- **лимфоидная система** – включает *T- и B-лимфоциты*, которые образуют специфические факторы иммунитета (антитела и T-клеточные рецепторы к антигену);

- **система естественных киллерных клеток (ЕКК)**;

- **система дендритных клеток** представлена дендритными клетками различного происхождения (клетки Лангерганса, интердигитирующие дендритные клетки, фолликулярные дендритные клетки и др.);

- **система гранулоцитов** объединяет *нейтрофильные, базофильные и эозинофильные* лейкоциты;

- **система мононуклеарных фагоцитов** представлена *моноцитами* крови и *макрофагами* тканей и органов;

- к системе **гуморальных факторов естественного неспецифического иммунитета** относятся лизоцим, С-реактивный белок (СРБ), фибронектин, лактоферрин, различные группы цитокинов, лектины и др.;

- **система комплемента** включает группу белков – ферментов и рецепторов, ответственных за лизис клеток-мишеней;

- **система тромбоцитов**.

Обозначение системы иммунитета понятием «*иммунная система*» не совсем точно, так как она становится «иммунной» (невосприимчивой к индуктору) лишь после стимуляции конкретным антигеном. Лимфоидная система, хотя и образует специфические факторы иммунитета, без кооперации с другими подсистемами не может осуществлять иммунитет.

Все подсистемы, помимо лимфоидной, принимают участие в иммунном ответе сравнительно неспецифично. Они выполняют множество различных функций, причем не только иммунитетных. В целом физиологическая роль системы иммунитета не ограничивается лишь созданием и поддержанием иммунитета. СИ участвует в регуляции метаболизма, пролиферации клеток и регенерации тканей, в поддержании физиологического гомеостаза. Функции СИ регулируются нервной и эндокринной системами. В свою очередь, клетки СИ, секретируя биологически активные вещества, влияют на функции этих систем. С другой стороны, факторы естественного

иммунитета могут выделяться самыми разными клетками организма, например, С-реактивный белок – гепатоцитами, цитокины – фибробластами, клетками эпителия и мн.др. В настоящее время неиммунитетные функции СИ и «иммунитетные» реакции различных систем и органов активно исследуются. Очевидно, что они тесно взаимосвязаны, и их взаимодействия опосредуются гормонами и цитокинами.

На молекулярном уровне центральными понятиями иммунологии являются *антигены*, *антитела*, *рецепторы* и *цитокины*.

Антигены – любые соединения, которые при контакте с системой иммунитета вызывают образование специфических антител и/или Т-клеточных рецепторов.

Антитела – белковые молекулы, иммуноглобулины, которые образуются В-лимфоцитами и плазмócитами и специфично взаимодействуют с антигенами.

Рецепторы – макромолекулы, обеспечивающие передачу внешнего сигнала в клетку; активация рецепторов происходит после специфического распознавания и связывания биологически активных веществ (*лигандов*).

Цитокины – медиаторы межклеточных взаимодействий, обеспечивающие взаимосвязь клеток внутри системы иммунитета и их многочисленные связи с другими системами макроорганизма.

Цитокины

Пролиферация, дифференцировка и взаимодействие клеток системы иммунитета между собой и с клетками других систем макроорганизма осуществляется с помощью регуляторных молекул – *цитокинов*.

Цитокины – это *секретируемые* активированными клетками *пептидные медиаторы*, осуществляющие *регуляцию активности и взаимодействий* всех звеньев системы иммунитета и влияющие на функцию различных тканей и органов.

Цитокины регулируют такие процессы, как пролиферация и дифференцировка клеток, кооперация клеток в иммунном ответе, клеточная репарация, различные варианты управляемой клеточной гибели (апоптоз, пироптоз, аутофагия и др.).

Общие свойства цитокинов

1. Обычно являются **гликопротеинами** со средней молекулярной массой 15-25 кДа (тыс. дальтон или килодальтон).

2. Действуют **ауто-** и **паракринно** (т.е. на саму клетку и на ее ближайшее окружение). Это короткодистантные молекулы.

3. Активны в самых **минимальных** (пико- и фемтомолярных) **концентрациях**.

4. Все цитокины имеют соответствующие им **специфические рецепторы** на мембранах клеток. После связывания цитокина с рецептором происходит **передача сигнала в клетку** на ее генетический аппарат с активацией экспрессии белков и изменением клеточной функции (например, клетка начинает выделять другие цитокины).

5. Цитокины обладают **множественным** (плейотропным) **действием**, одновременно активируя различные типы и группы клеток в органах и тканях. Эффект многих цитокинов дублируется и **перекрывается** (избыточность действия цитокинов).

Классификация цитокинов

Цитокины разделяются на несколько основных групп.

1. Интерлейкины (**ИЛ**).

2. Интерфероны (**ИФН**).

3. Группа факторов некроза опухоли (**ФНО**).

4. Группа **колониестимулирующих факторов** (в частности, **гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор – ГМ-КСФ**, и отдельно **гранулоцитарный** и **макрофагальный** колониестимулирующие факторы – **Г-КСФ** и **М-КСФ**, соответственно).

5. Группа **факторов роста** (**трансформирующий фактор роста бета** или **ТФР-бета**, инсулиноподобный фактор роста **ИФР**, **эритропоэтин**, эндотелиальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, фактор роста нервов и мн.др.).

6. **Хемокины** – многочисленные цитокины разных групп, отвечающие за клеточный **хемотаксис**.

Интерлейкины

Цитокины, выделяемые преимущественно клетками системы иммунитета, получили название **интерлейкинов (ИЛ) – факторов межлейкоцитарного взаимодействия**.

К настоящему времени установлено свыше 40 интерлейкинов человека. Они нумеруются по порядку (ИЛ-1 – ИЛ-40 и далее). Выделяются лейкоцитами при их стимуляции продуктами микробов и другими индукторами. Ниже приводятся основные интерлейкины, которые играют важнейшую роль в системе иммунитета как в норме, так и при развитии патологических состояний.

ИЛ-1 выделяется главным образом макрофагами и дендритными клетками, является *пирогеном* (вызывает повышение температуры, воздействуя на рецепторы в гипоталамусе), способствует дифференцировке Т-лимфоцитов с образованием *Т-хелперов 1 типа* или *Tx1*. Активирует также клетки других типов, стимулирует воспаление (**провоспалительный** цитокин).

ИЛ-2 выделяется Т-хелперами (*преимущественно 1 типа, Tx1*) и **стимулирует пролиферацию и дифференцировку** многих клеточных линий, в первую очередь Т- и В-лимфоцитов, ЕК-клеток, моноцитов.

ИЛ-3 является одним из основных **гемопоэтических факторов**, продуцируется Т-клетками, стимулирует пролиферацию и дифференцировку всех линий предшественников гемопоэза.

ИЛ-4 – выделяется *Т-хелперами 2 типа* и тучными клетками, индуцирует превращение "наивных" CD4-Т-клеток в *Т-хелперы 2 типа* или *Tx2*, является фактором роста В-лимфоцитов, стимулирует их пролиферацию на раннем этапе дифференцировки, образование антител класса **IgE** и IgG4.

ИЛ-5 продуцируется *Т-хелперами 2 типа*, стимулирует созревание эозинофилов, базофилов и синтез иммуноглобулинов В-лимфоцитами.

ИЛ-6 – цитокин с множественным (*плейотропным*) действием, выделяется Т-лимфоцитами, макрофагами и многими клетками вне системы иммунитета, стимулирует созревание В-лимфоцитов в плазматические клетки, активирует воспаление.

ИЛ-7 – еще один ведущий **гемопоэтических фактор**, продуцируется стромальными клетками костного мозга и фибробластами, активирует дифференцировку предшественников Т- и В-лимфоцитов, стимулирует пролиферацию Т-клеток.

ИЛ-8 – важный *фактор хемотаксиса* гранулоцитов, в первую очередь **нейтрофилов** и базофилов (**хемокин**); секретируется макрофагами и моноцитами после их связывания с патогенами, а также эндотелиальными, эпителиальными и другими клетками. Активирует нейтрофилы, вызывает их направленную миграцию в очаг воспаления, лейкоцитарную адгезию, выброс ферментов и активных форм кислорода, стимулирует дегрануляцию базофилов, адгезию макрофагов, ангиогенез.

ИЛ-10 – выделяется Т-лимфоцитами (главным образом, регуляторными Т-клетками – ***Treg***), регуляторными В-клетками (***Breg***), макрофагами. Один из ведущих цитокинов, ***угнетающих иммунные реакции***. Подавляет выделение *провоспалительных цитокинов* (ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО и др.), снижает экспрессию молекул HLA II класса и костимулирующих молекул макрофагами и дендритными клетками.

ИЛ-12 – источник – моноциты-макрофаги и дендритные клетки; цитокин активирует дифференцировку Т-лимфоцитов с переходом *Tx0* в ***T-хелперы 1-го типа (Tx1)*** и усилением синтеза ими гамма-интерферона; вызывает пролиферацию естественных киллеров, ***стимулирует воспаление***.

ИЛ-13 – выделяется Т-лимфоцитами (в основном *T-хелперами 2 типа* или ***Tx2***), тучными клетками, вызывает дифференцировку В-клеток, секрецию иммуноглобулинов (IgM, IgE и др.), активирует аллергические реакции, ***подавляет Tx1 и воспаление***.

ИЛ-17 – синтезируется особой популяцией Т-хелперов – ***Tx17***. Это цитокин с обширной разнонаправленной активностью (*плейотропное* действие). Он стимулирует Т-лимфоциты, макрофаги и нейтрофилы, поддерживая *воспаление*. С другой стороны, ИЛ-17 активирует В-лимфоциты, синтез антител и может запускать *реакции аутоиммунитета*. Также ИЛ-17 стимулирует миелопоэз, воздействует на эндотелиальные и эпителиальные клетки.

ИЛ-18 – мощный ***провоспалительный цитокин***, продуцируется моноцитами и макрофагами, дендритными клетками. Действует во многом сходно с ИЛ-12 – усиливает синтез гамма-интерферона *T-хелперами 1-го типа (Tx1)*; активирует ЕК-клетки, нейтрофилы и макрофаги, ингибирует синтез IgE.

ИЛ-21 – выделяется *Tx17* и *Tx2*, ***стимулирует образование Tx17***, дифференцировку В-лимфоцитов, созревание ЕК-клеток.

ИЛ-23 – продуцируется макрофагами, дендритными клетками, стимулирует формирование *Tx17* и Т-клеток памяти.

ИЛ-28 и **ИЛ-29** – известны как **лямбда-интерфероны**; действуют на клетки эпителия, участвуют в противовирусном иммунитете.

ИЛ-35 – выделяется регуляторными Т- и В-лимфоцитами (***Treg*** и ***Breg***). **Подавляет воспалительный иммунный ответ**, стимулирует образование регуляторных Т- и В-лимфоцитов.

ИЛ-37 – продуцируется многими клеточными популяциями – ЕК-клетками, В-лимфоцитами, моноцитами, эпителиоцитами и др. в органах и тканях. **Угнетает воспалительные иммунные реакции** – подавляет выделение провоспалительных цитокинов макрофагами и дендритными клетками, **стимулирует образование *Treg***, активирует противоопухолевый иммунитет посредством стимуляции ЕК-клеток.

Интерфероны

Интерфероны – это группа цитокинов с широкой **противовирусной** и **иммунорегуляторной** активностью. Впервые они были обнаружены при изучении феномена вирусной интерференции, когда животные, инфицированные одним из вирусов, становились устойчивыми к последующему заражению другим неродственным вирусом.

Исходя из их биологических функций, выделяют III типа интерферонов.

К интерферонам **I типа** относятся семейства **альфа-интерферонов** (α-ИНФ), **бета-интерферонов** (β-ИНФ), а также несколько минорных групп (омега-интерфероны и ряд других).

Альфа-интерфероны продуцируются лейкоцитами, **бета-интерфероны** – фибробластами и некоторыми другими типами клеток.

Основная биологическая функция интерферонов **I типа** – **врожденный противовирусный иммунитет**. Также они принимают участие в **противоопухолевом иммунитете**.

Клетки начинают продуцировать альфа- или бета-интерфероны после их заражения вирусами. Уровень интерферона во внеклеточной жидкости растет, и его молекулы взаимодействуют со специфическими рецепторами на мембранах еще неинфицированных клеток. После связывания с рецепторами сигнал передается внутрь клетки с **активацией экспрессии генов**, кодирующих противовирусные белки-ферменты. Один из них (**протеинкиназа**

РКР) фосфорилирует фактор инициации трансляции и белки рибосом с блокадой их активности. Это подавляет синтез белков в клетке при ее заражении вирусом. Другой фермент *олигоаденилатсинтетаза* катализирует образование в клетках олигоаденилатов, которые, в свою очередь, активируют клеточную *латентную рибонуклеазу (РНКазу L)*. РНКазы L в зараженных клетках разрушают вирусные (и клеточные) РНК и тем самым угнетают синтез вирусных белков. Кроме того, тормозится деление зараженных клеток.

Интерферон *II типа* известен как *гамма-интерферон (γ -ИНФ)*. Этот цитокин существенно отличается от двух предыдущих. В целом он проявляет свойства типичного интерлейкина.

Данный вариант интерферона продуцируется преимущественно *Т-хелперами I типа*. Он активирует различные клеточные популяции, особенно *макрофаги*, естественные киллеры, стимулирует превращение *$Tx0$ в $Tx1$* , тем самым усиливая *воспалительный* компонент иммунного ответа.

Гамма-интерферон усиливает синтез HLA-антигенов клетками, что приводит к ускорению процессов распознавания и внутриклеточной переработки (процессинга) антигенов, стимулирует адгезию лейкоцитов и моноцитов, фагоцитоз, усиливает экспрессию Fc-рецепторов на моноцитах/макрофагах и связывание ими антител.

К интерферонам *III типа* относится 3 варианта *лямбда-интерферонов* и некоторые другие регуляторные молекулы. Они проявляют заметную *противовирусную активность*.

Группа факторов некроза опухоли (ФНО)

Данная группа цитокинов представлена собственно *фактором некроза опухоли (ФНО)*, ранее он назывался ФНО-альфа) и *лимфотоксинами* (ранее – ФНО-бета).

ФНО выделяется *макрофагами*, естественными киллерами и многими другими клетками. Это мощный *провоспалительный цитокин с пирогенной активностью*, образование которого резко усиливается при многих инфекциях, особенно под действием бактериального липополисахарида (ЛПС). Он запускает реакции *клеточного иммунитета* – активирует функцию Т-лимфоцитов, нейтрофилов, эндотелия. Также он проявляет собственную цитотоксическую активность, активирует *апоптоз* клеток, тем самым

играя важную роль в противоопухолевом иммунитете; является *пирогеном*.

Лимфотоксины продуцируются Т-лимфоцитами и другими клеточными популяциями; они обладают *провоспалительной*, иммуностимулирующей и *антивирусной активностью*, стимулируют *апоптоз* опухолевых и вирус-инфицированных клеток.

Группа цитокинов – факторов роста

Среди многочисленной группы цитокинов – **факторов роста** следует отметить *трансформирующий фактор роста бета* или **ТФР-бета**. Он является одним из наиболее значимых цитокинов, *подавляющих иммунные реакции*. Наряду с ИЛ-10, выделяется *регуляторными Т-клетками – Treg*.

Другие цитокины этой группы – **ИФР** (инсулиноподобный фактор роста), **эритропоэтин**, фактор роста нервов, эндотелиальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста и многие другие контролируют развитие и дифференцировку клеток в различных тканях и органах.

По преобладающим свойствам различают **провоспалительные цитокины** (ФНО, гамма-интерферон, ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18 и мн. др.), **противовоспалительные цитокины** (ИЛ-10, ТФР-бета, ИЛ-13, ИЛ-35 и др.), а также дифференцировочные цитокины – **регуляторы гемопоэза** (ИЛ-3, ИЛ-7, колониестимулирующие факторы, факторы роста).

CD-молекулы – мембранные лейкоцитарные антигены и рецепторы

В процессе созревания клеток системы иммунитета на их мембранах появляются различные макромолекулы, соответствующие определенной стадии развития клеточных популяций. Они получили название **CD-молекул** или **CD-антигенов** (CD – от англ. *cluster of differentiation* – *кластер дифференцировки*).

К настоящему времени установлено свыше 370 различных CD-молекул. Большинство из них выполняет функции **мембранных рецепторов**. После взаимодействия с ними клетка получает сигнал,

изменяющий ее поведение – может происходить клеточная активация, супрессия или *апоптоз* (*программируемая клеточная гибель*).

При этом многие CD-молекулы являются **фенотипическими мембранными маркерами** отдельных клеточных субпопуляций (Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, ЕК-клеток и др.). Популяции иммунных клеток, несущие на своих мембранах специфические CD-АГ, определяют с помощью флюоресцентно меченых моноклональных антител методом *иммунофлюоресцентной микроскопии* и *проточной цитометрией*.

Наиболее важные CD-молекулы с установленной биологической функцией приведены ниже.

- **CD1** – имеет *a, b, c, d*-изоформы; молекула представлена на тимоцитах, дендритных клетках (клетки Лангерганса), является *общим антигеном тимоцитов*; CD1-молекулы по структуре сходны с антигенами I класса гистосовместимости, выполняют **презентацию липидных антигенов** клеткам системы иммунитета;

- **CD2** – *общий маркер всех Т-клеток*, обнаруживается также на естественных киллерных (ЕК) клетках; относится к молекулам адгезии, *передает трансмембранные сигналы* при активации Т-клеток; способен связывать эритроциты барана в реакции розеткообразования;

- **CD3** – *маркер всех зрелых Т-лимфоцитов*, ассоциирован с *антигенспецифическим Т-клеточным рецептором (ТКР)*; способствует передаче сигнала от Т-клеточного рецептора в цитоплазму Т-лимфоцитов;

- **CD4** – *маркер Т-хелперов*; в малых количествах представлен также на моноцитах/макрофагах, дендритных клетках, клетках глии, сперматозоидах; *участвует в распознавании антигенов*, ассоциированных с молекулами гистосовместимости **HLA II класса**; является рецептором для вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), взаимодействуя с вирусным белком gp120

- **CD8** – *маркер цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров)*; вовлекается в *распознавание антигенов* при участии молекул гистосовместимости **HLA I класса**;

- **CD11/CD18** – имеется на всех лейкоцитах, молекула клеточной адгезии – лейкоцитарный **интегрин**;

- **CD14** – имеют моноциты-макрофаги, гранулоциты, *рецептор* для комплексов бактериального липополисахарида (**ЛПС**) с **ЛПС-**

связывающим белком; активация фагоцитов через CD14 в итоге приводит к интенсивному выделению провоспалительных цитокинов;

- **CD16** – представлен на нейтрофилах, ЕК-клетках, моноцитах и макрофагах; низкоаффинный *Fc-рецептор для IgG* (Fcγ RIII);

- **CD19-22** – *маркеры В-лимфоцитов*;

- **CD25** – входит в структуру *рецептора к ИЛ-2*; имеется на активированных лимфоцитах и макрофагах;

- **CD28** – *костимулирующая молекула* для активации *Т-лимфоцитов*; взаимодействует с молекулами *CD80/86* на антигенпредставляющих клетках (*АПК*);

- **CD32** – имеют моноциты, гранулоциты; среднеаффинный *Fc-рецептор для IgG* (Fcγ RII);

- **CD34** – *ранний маркер гемопоэза*, представлен на *гемопоэтических клетках-предшественниках*;

- **CD35** – рецептор для *C3b компонента системы комплемента* (*CR1-рецептор*); экспрессируется на многих клетках (гранулоциты, макрофаги и др.), стимулирует *опсонизацию*;

- **CD40** – маркер зрелых В-лимфоцитов; *костимулирующая молекула* на В-клетках для активации Т-хелперов и запуска *гуморальных иммунных реакций* с синтезом антител; лигандом для CD40 является молекула *CD40L (CD154)*;

- **CD45** – общий лейкоцитарный антиген; его вариант **CD45RO** – маркер Т-клеток памяти, вариант **CD45RA** – маркер «наивных» Т-лимфоцитов, не встречавшихся с антигеном;

- **CD54** – адгезин *ICAM-1* (англ. – *intercellular adhesion molecule*); одна из ведущих молекул межклеточной адгезии, экспрессируется на эндотелиальных клетках и лейкоцитах, обеспечивает проникновение лейкоцитов через эндотелий в ткани; лигандом для нее служит интегрин *CD11/CD18*;

- **CD62** – группа адгезинов из семейства *селектинов*; различают *тромбоцитарные, эндотелиальные и лейкоцитарные* селектины, они участвуют в адгезии лейкоцитов, тромбоцитов и эндотелия, взаимодействуя с углеводными остатками молекул;

- **CD64** – высокоаффинный *Fc-рецептор для IgG* на моноцитах/макрофагах и гранулоцитах (Fcγ RI);

- **CD80/86** – *костимулирующие молекулы* на антигенпредставляющих клетках (дендритные клетки, В-лимфоциты), их взаимодействие с **CD28** приводит к активации лимфоцитов;

альтернативное последующее взаимодействие с **CD152** – к подавлению иммунных реакций;

- **CD95** (*Fas/Apo-рецептор* или «рецептор смерти») – представлен на тимоцитах, субпопуляциях Т- и В-лимфоцитов; взаимодействует с *Fas-лигандом* или **CD178**; тем самым активируется внешний сигнальный путь **апоптоза** – запрограммированной клеточной гибели.

- **CD152** – относится к **ингибиторным костимулирующим молекулам**; обнаруживается на *регуляторных Т-клетках* с функцией иммуносупрессии, а также появляется на *активированных Т-лимфоцитах*; данный рецептор взаимодействует с **CD80/86**, подавляя дальнейшую активацию Т-лимфоцитов (регуляция **иммунных контрольных точек**);

- **CD158** – экспрессируется на **естественных киллерах**; относится к **киллинг-ингибирующим рецепторам (КИР)**; предотвращает действие ЕК-лимфоцитов в отношении нормальных клеток организма, реагируя с неизмененными молекулами *HLA I класса* на их мембранах;

- **CD159** – относится к **киллинг-активирующим рецепторам ЕК-клеток**;

- **CD279 (PD-1)** и его лиганды **PD-L1 (CD274)** и **PD-L2 (CD273)** относятся к молекулам – регуляторам **иммунных контрольных точек**; экспрессируются на **активированных Т-лимфоцитах** и *регуляторных Т-клетках*; взаимодействие PD-1 с лигандами стимулирует **апоптоз** активированных **Т-клеток**, предотвращая тем самым аутоиммунные реакции.

Лимфоидная система: дифференцировка субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, их функции

Общая масса лимфоидной ткани в организме человека сопоставима с массой печени и включает до 10^{13} лимфоцитов.

Все клетки крови, в том числе и лимфоциты, происходят из **гемопоэтических стволовых клеток (ГСК)**. На различных сроках эмбрионального развития гемопоэз происходит в фетальной печени, а затем в лимфоузлах, селезенке, красном костном мозге. У взрослых – только в костном мозге. Из ГСК под влиянием различных цитокинов возникают предшественники лимфоцитов и других лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов.

Лимфоциты неоднородны. Различают три основных популяции лимфоцитов: ***T-лимфоциты***, которые дифференцируются в тимусе («тимусные»), ***B-лимфоциты*** и ***ЕК-клетки*** («естественные киллеры»), созревающие в костном мозге. Они развиваются из гемопоэтической стволовой клетки через стадию общей *клетки-предшественницы лимфопоэза*. Процесс контролируется гемопоэтическими цитокинами – факторами роста стволовых клеток, ***ИЛ-3*** и ***ИЛ-7***.

Первичная дифференцировка и созревание лимфоидных клеток обозначается как ***лимфопоэз***. Деление лимфоцитов с их дальнейшей дифференцировкой под влиянием антигенов с образованием иммунных лимфоцитов и антител часто обозначают как ***иммунопоэз***.

В ходе иммунопоэза только ***T-*** и ***B-лимфоциты*** образуют специфические структуры, взаимодействующие с антигенами – клеточные рецепторы к антигену и антитела.

Развитие T- и B-лимфоцитов включает процесс ***антиген-независимой дифференцировки*** и созревания, протекающий в центральных органах иммунитета (костном мозге и тимусе), и ***антигензависимую дифференцировку***, происходящую после миграции лимфоцитов в T- или B-зависимые зоны периферических органов системы иммунитета.

T-лимфоциты: развитие и дифференцировка

Наличие *T-клеточного рецептора к антигену (ТКР)* определяет принадлежность лимфоцитов к популяции T-клеток.

Уровень экспрессии и созревания мембранного ТКР соответствует стадии развития T-лимфоцитов.

Существуют две основные подгруппы T-клеток, несущих на своих мембранах разные по структуре ТКР.

Большинство T-лимфоцитов человека имеют мембранный ТКР, состоящий из альфа- и бета-полипептидной цепи ($\alpha\beta$ T-клетки). Они представляют до 95% от общего числа T-лимфоцитов. Оставшаяся минорная часть T-лимфоцитов имеет другой вариант ТКР, состоящий из гамма- и дельта- белковых цепей ($\gamma\delta$ T-клетки).

$\alpha\beta$ T-лимфоциты находятся во всех лимфоидных тканях и органах, тогда как $\gamma\delta$ T-клетки располагаются главным образом в слизистой желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. Следовательно, $\gamma\delta$ T-клетки являются активными участниками

иммунной защиты слизистых оболочек, препятствуя распространению микробных патогенов.

На *ранних стадиях дифференцировки* Т-лимфоцитов происходит миграция предшественников Т-клеток первоначально из печени плода, а в дальнейшем – из костного мозга **в тимус**, где происходит созревание Т-лимфоцитов. Необходимо отметить, что $\alpha\beta$ Т-лимфоциты возникают главным образом из клеток, мигрировавших из костного мозга, в то время как большинство $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов происходят от предшественников Т-клеток из фетальной печени.

Тимус является лимфоэпителиальным железистым органом; он активен в фетальном периоде и в детском возрасте до наступления половой зрелости. Позже тимус подвергается инволюции, однако часть лимфоэпителиальной ткани сохраняет свою функцию в течение длительного времени.

В тимусе происходит **антигеннезависимая дифференцировка** первичных Т-клеток, обозначаемых как **тимоциты**. В процессе созревания они постепенно переходят из кортикального слоя к зонам мозгового вещества тимуса. На созревание Т-лимфоцитов активно влияют *гормоны тимуса* – тимозин, тимопоэтин и др.

Появление ТКР и ряда мембранных CD-молекул отражает последовательные этапы развития и дифференцировки Т-лимфоцитов.

В ранних клетках-предшественниках (**про-Т-лимфоциты**) активируются геномные ферменты-рекомбиназы (*Rag-белки*), которые запускают перестройку генов, кодирующих Т-клеточный рецептор.

Переход данных клеток в следующую стадию (**пре-Т-клетки**) сопровождается появлением на их мембране (**экспрессия**) одной белковой цепи Т-клеточного рецептора (бета или гамма) и отдельного набора мембранных CD-молекул (CD1, CD2 и CD7). Исходно у всех таких тимоцитов отсутствуют молекулы CD4 и CD8 (так называемые «**двойные негативные Т-клетки**»).

Дальнейшая дифференцировка Т-лимфоцитов приводит к экспрессии на мембране полной двухцепочечной молекулы ТКР и поддерживающей ее молекулы CD3. Данные клетки также приобретают молекулы CD4 и CD8 (стадия «**двойных позитивных**» Т-лимфоцитов).

На этой стадии тимоциты, несущие ТКР, вступают в процесс **позитивной** и **негативной** селекции. Это происходит за счет специфического контакта Т-клеток с *эпителиальными клетками*

тимуса. Эпителиальные клетки окружают тимоциты своими инвагинациями и отростками («клетки-няньки»). Здесь они представляют созревающим Т-лимфоцитам, имеющим ТКР, пептидные АГ макроорганизма в комплексе с собственными молекулами HLA I или II класса.

Отбираются и сохраняются те Т-клетки, которые умеренно или слабо реагируют своим ТКР с комплексами собственных HLA на мембранах эпителиальных клеток тимуса (**позитивная селекция**).

Тимоциты, ТКР которых не реагируют со своими HLA, устраняются путем *апоптоза*. Это обеспечивает распознавание Т-клеточным рецептором чужеродного антигена *только в комплексе с собственной молекулой HLA* (феномен «**двойного распознавания**» и феномен «**HLA-рестрикции**» – ограничения по своим HLA).

С другой стороны, среди тимоцитов имеются клетки, которые несут ТКР с высоким сродством (связывающей способностью) к собственным АГ организма. Они также получают сигнал к апоптозу и устраняются (**негативная** или **отрицательная селекция**).

Удаление самых мощных аутореактивных клонов Т-клеток создает невосприимчивость к собственным антигенам (механизм «**центральной толерантности**»), предупреждая тем самым возникновение аутоиммунных расстройств в будущем.

Когда Т-клетка распознает антиген в комплексе с **HLA класса I**, это требует дополнительного присоединения костимулирующей молекулы **CD8**. И наоборот, связывание Т-клеточным рецептором АГ в комплексе с **HLA II класса** требует взаимодействия с костимулирующей молекулой **CD4**.

Данные взаимодействия приводят к трансформации исходных «двойных позитивных» ($CD4^+CD8^+$) тимоцитов в «**однопозитивные**» Т-лимфоциты, несущие на своей мембране либо CD4- либо CD8-корцептор.

$CD4^+$ Т-лимфоциты становятся основой субпопуляции **Т-хелперов**, **$CD8^+$ Т-лимфоциты** – субпопуляции **цитотоксических Т-лимфоцитов** (Т-киллеров). До первого контакта со специфическим АГ такие Т-лимфоциты еще называются *непримированными* или «**наивными**» (стадия *однопозитивных «незрелых» Т-лимфоцитов*).

«Однопозитивные» Т-лимфоциты мигрируют из тимуса на периферию в Т-зависимые зоны периферических лимфоидных тканей и органов. При поступлении в организм АГ наступает стадия **антигензависимой дифференцировки** Т-лимфоцитов. Здесь происходит превращение Т-клеток в их заключительные

субпопуляции со специализированными эффекторными функциями. Процесс связывания чужеродного антигена через ТКР приводит к отбору клонов АГ-специфических Т-лимфоцитов (**клональная селекция**) и их размножению (**клональная экспансия**) с конечным образованием долгоживущих Т-клеток памяти.

Основными **мембранными маркерами Т-лимфоцитов** являются ТКР, CD2, CD3, и CD7, а также CD4 для хелперов и CD8 для цитотоксических клеток.

Общая популяция Т-лимфоцитов в крови составляет около 60% (50-75%) от всех лимфоцитов.

Субпопуляции Т-лимфоцитов

Т-хелперы

С помощью Т-клеточного рецептора **Т-хелперы (Тх)** распознают **пептидные АГ** в комплексе с молекулами **HLA II класса** на мембране антигенпредставляющих клеток (АПК).

Т-хелперный корецептор CD4 взаимодействует в этом комплексе с молекулами HLA II класса.

Суммарно к Т-хелперам относится до 40-50% лимфоцитов. Активация различных линий Т-хелперных клеток стимулирует пролиферацию и дифференцировку как Т- и В-лимфоцитов, так и других клеток системы иммунитета.

Существуют 2 основных субпопуляции Т-хелперов – **Т-хелперы 1 и 2 типов (Тх1 и Тх2)**. Их функции во многом противоположны и взаимно дополняют друг друга. Каждый из них продуцирует свой специфический набор цитокинов.

Тх1 секретируют **ИЛ-2** и **гамма-интерферон**, тем самым стимулируя **клеточный иммунитет**. Они активизируют макрофаги, дендритные клетки и цитотоксические лимфоциты, способствуя развитию **воспаления**. Реакции, опосредованные Тх1, защищают организм от широкого числа микробных агентов, в том числе от внутриклеточных патогенов.

Тх2 действуют на В-лимфоциты и стимулируют их превращение в плазмочиты, секретирующие антитела. Они активируют процесс переключения изотипов иммуноглобулинов в В-лимфоцитах, что приводит к синтезу АТ всех классов, включая IgE. Тем самым они поддерживают **гуморальный иммунитет**.

Tx2 продуцируют ряд цитокинов, среди них **ИЛ-4**, **ИЛ-5**, ИЛ-6, **ИЛ-10**, ИЛ-13, ИЛ-15.

Сравнительно недавно были установлены и другие субпопуляции Т-хелперных клеток.

Т-хелперы 17 (Tx17) играют важную роль в реакциях как *клеточного*, так и *гуморального* иммунитета.

Их образование стимулируется цитокинами ИЛ-21, ИЛ-23, а также ТФР-бета.

Tx17 синтезируют одноименный интерлейкин **ИЛ-17**, а также ИЛ-21, ИЛ-22 и другие цитокины. При этом они активируют широкий спектр клеток как в системе иммунитета, так и за ее пределами (нейтрофилы, макрофаги, Т- и В-лимфоциты, ЕК-клетки, эпителиальные и эндотелиальные клетки, гемопоэтические клетки). Под их влиянием прогрессирует **хроническое воспаление**, усиливается **фагоцитоз** и **синтез антител**, ускоряется созревание миелоидных клеток, развиваются **аутоиммунные реакции**.

Еще одной особой хелперной популяцией являются **фолликулярные хелперные клетки** или **T_{ФХ}**. Их линия развивается из «наивных» Tx0 в фолликулах лимфатических узлов после контакта с антигенпрезентирующими В-клетками при участии ИЛ-21. После своего образования и активации **T_{ФХ}** стимулируют превращение фолликулярных В-лимфоцитов в *долгоживущие плазматические клетки*, секретирующие антитела, и в *В-лимфоциты памяти*.

Регуляторные Т-клетки

Регуляторные Т-клетки или **Трег** дифференцируются как естественные **супрессорные клетки** системы иммунитета. Их молекулярными маркерами типа являются **CD4** и **CD25**, которые одновременно присутствуют на клеточной мембране.

Кроме того, регуляторные Т-клетки содержат активную форму специфического фактора транскрипции Foxp3.

В иммунном ответе **Трег** взаимодействуют с АГ, который им представляют дендритные клетки. После активации они начинают экспрессировать ингибиторную костимулирующую молекулу **CD-152**, что приводит к подавлению активности антигенпрезентирующих клеток. Кроме того, Трег продуцируют большое количество ингибирующих цитокинов, таких как **ТФР-бета** и **ИЛ-10**, которые тормозят пролиферацию различных субпопуляций клеток в системе иммунитета.

Цитотоксические Т-лимфоциты

Мембранным маркером ***цитотоксических Т-лимфоцитов (Тц)*** является молекула ***CD8***. Их доля среди лимфоцитов составляет около 20%.

Цитотоксические Т-лимфоциты распознают ***пептидные АГ*** в комплексе с ***молекулами HLA I класса***, представленные на мембранах зараженных клеток или измененных (раковых) клеток. Корцептор CD8 связывается с антигенами HLA-I, поддерживая распознавание антигена цитотоксическими клетками.

Разрушая пораженные клетки, Тц удаляют внутриклеточные патогены (вирусы и многие виды бактерий), а также принимают активное участие в ***иммунологическом надзоре***, устраняя злокачественные клетки. Тем самым они играют важнейшую роль в ***противовирусном*** и ***противоопухолевом*** иммунитете.

Активированные ($CD8^+$) Т-лимфоциты (***Т-киллеры***) после связывания с АГ на мембранах пораженных клеток запускают их ***апоптоз*** (запрограммированную клеточную гибель). Тц продуцируют широкий набор цитотоксических белков: ***перфорин***, ферменты ***гранзимы*** и ***гранулизин***. ***Перфорин*** действует в качестве ***порообразующего*** токсина, образуя канал в мембране клетки-мишени. Это позволяет ***гранзимам*** проникать в пораженную клетку и стимулировать ее ***апоптоз*** посредством активации ферментов каспаз.

Кроме того, Тц активируют апоптоз за счет повышения экспрессии на своей мембране Fas-лиганда (FasL или CD178), который связывается с рецептором апоптоза Fas/Apo (CD95) на мембране клетки-мишени.

Т-клетки памяти

Т-клетки памяти – это долгоживущие субпопуляции $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток, возникающие из активированных антиген-специфичных Т-лимфоцитов. Их жизнеспособность и активность поддерживаются очень долго (20 лет и более). Маркер Т-клеток памяти – молекула ***CD45RO***.

При повторной антигенной стимуляции клетки памяти сразу взаимодействуют с поступившим АГ. При этом они сами становятся источниками для интенсивного размножения новых АГ-специфичных Т-лимфоцитов.

Т-клеточный рецептор

Т-клеточный рецептор (ТКР) относится к молекулам *суперсемейства иммуноглобулинов*. Основу таких молекул составляют глобулярные субъединицы (*домены*), соединенные между собой короткими линейными участками.

ТКР экспрессируется на мембранах Т-лимфоцитов. По своей структуре он представляет собой гетеродимер, обычно состоящий из альфа- и бета-цепи (с молекулярной массой около 40-50 кД каждая), либо реже из гамма- и дельта цепи. Т-клетка, несущая $\gamma\delta$ вариант ТКР поддерживает местный иммунитет слизистых оболочек органов и тканей (около 1-5% от общего числа Т-лимфоцитов).

ТКР тесно связан с молекулами комплекса CD3 на мембране Т-лимфоцита.

Каждая из цепей ТКР состоит из **константного** (постоянного) и **вариабельного** глобулярного **домена**.

Вариабельные домены обеих цепей образуют **антигенсвязывающий сайт** ТКР, который взаимодействует с антигенным пептидом. При этом антигенный пептид помещается в полость между цепями.

Активный центр ТКР распознает АГ, представленный на мембране АПК, только в комплексе с молекулами HLA I или II класса («*двойное распознавание*», «*HLA- рестрикция*»).

Широкое разнообразие активных центров ТКР, уникальных для каждого клона Т-лимфоцитов, обусловлено генетически.

Существует 3 группы генов (генных сегментов), обозначаемых как **V**, **D** и **J**, которые **совместно** кодируют **вариабельный участок** цепей ТКР. В каждой из групп присутствует значительное количество разных вариантов этих генов. Их общее число в трех группах превышает 150.

Конечная последовательность аминокислот в вариабельном домене ТКР – это результат **рекомбинации** и соединения отдельных генных сегментов (по одному от каждого набора V, D и J), случайно отобранных из общей последовательности.

Данный процесс генетической перестройки (**генетическая реаранжировка**) приводит к образованию множества Т-лимфоцитов, каждый из которых будет отличаться антигенной специфичностью своего Т-клеточного рецептора.

В-лимфоциты: дифференцировка и функции

В-лимфоциты и образующиеся из них **плазмоциты** являются основными клетками **гуморального иммунитета**. Они отвечают за синтез молекул **иммуноглобулинов**, которые могут специфически связывать антиген (**функция антител**).

В норме В-лимфоциты составляют около 25% (18-30%) от общей популяции лимфоцитов периферической крови.

В-клетки получили свое наименование в соответствии с названием центрального лимфоидного органа, определяющего гуморальный иммунитет у птиц – сумка Фабрициуса или в латинском варианте – *bursa Fabricii*. Она расположена у птиц в области клоаки. Считается, что ближайшим аналогом фабрициевой сумки у млекопитающих являются пейеровы бляшки кишечника. Тем не менее, центральным лимфоидным органом для В-лимфоцитов млекопитающих является **красный костный мозг**.

Как и другие клетки крови, В-лимфоциты являются потомками гемопоэтических стволовых клеток. У плода ранняя дифференцировка В-клеток происходит в фетальной печени, а затем в костном мозге, после рождения – только в костном мозге.

В-лимфоциты начинают дифференцироваться из ГСК через стадию **общей клетки-предшественницы лимфопоэза**. Для их развития и созревания необходимы различные ростовые цитокины (ИЛ-3, ИЛ-7, ИЛ-4, ИЛ-6 и некоторые другие).

Итогом развития В-лимфоцитов является образование по крайней мере **двух** различных **субпопуляций** зрелых В-лимфоцитов – минорной **В-1** и **основной популяции**, которую иногда именуют **В-2**; в нее входит подавляющее большинство остальных В-лимфоцитов.

Как и антигенспецифические Т-лимфоциты, В-клетки проходят через стадии **антигеннезависимой** и **антигензависимой** дифференцировки.

Основное количество В-лимфоцитов (субпопуляция В-2) проходит **антигеннезависимую дифференцировку** в **костном мозге**.

Дальнейшая **антигензависимая дифференцировка** происходит после миграции В-клеток в **В-зависимые зоны** периферических лимфоидных тканей и органов.

На ранних этапах развития (стадия **про-В-лимфоцита**) в клетках происходит активация **ферментов-рекомбиназ** (*Rag белков*), которые стимулируют генетическую перестройку генов, кодирующих молекулу иммуноглобулинов.

Последующая трансформация в *пре-В-клетки* сопровождается появлением на мембране *тяжелой цепи IgM* (μ -цепь) и молекул CD10 и CD19.

На следующем этапе дифференцировки образуются *незрелые В-лимфоциты*, которые имеют *полную молекулу IgM* различной специфичности на своей мембране (антительный *В-клеточный рецептор* или *ВКР*).

На этой стадии В-клетки, рецепторы которых могут связывать собственные АГ органов и тканей, подвергаются *редактированию рецепторов*. При этом происходит повторная активация ферментов-рекомбиназ с дополнительной перестройкой генов, кодирующих легкую цепь ВКР. Это должно приводить к уменьшению или потере связывания ВКР с антигенами своих клеток.

Однако, в случае неэффективного редактирования рецепторов, клоны незрелых В-клеток, несущие ВКР с высоким сродством против собственных тканей, устраняются *апоптозом* (*отрицательная селекция* аутореактивных В-клеток).

Оставшиеся В-клетки мигрируют преимущественно в селезенку, где происходит их превращение в фолликулярные зрелые В-лимфоциты.

Зрелые В-клетки экспрессируют одновременно два вида ВКР одной и той же специфичности – рецепторные молекулы классов *IgM* и *IgD*. Они продолжают миграцию в В-зависимые зоны лимфоидной системы (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей и т.д.).

В периферийных В-зависимых зонах зрелые В-лимфоциты контактируют с АГ и начинают *антигензависимую дифференцировку*. При этом они теряют поверхностный IgD.

После связывания АГ В-лимфоциты вступают в *бласттрансформацию* с размножением антиген-специфических клонов В-клеток (*клональная экспансия*).

По завершении процесса бласттрансформации В-лимфоциты превращаются в *плазматические клетки*. Плазмоциты являются *секреторными* клетками, способными продуцировать антитела той же специфичности, но только одного из 5 возможных классов иммуноглобулинов (IgM, IgD, IgG, IgA или IgE).

Для эффективной дифференцировки В-клеткам необходима помощь со стороны Т-хелперов, в первую очередь – *T_H2* и фолликулярных хелперных клеток *T_{FH}*.

T_H2 продуцируют интерлейкины **ИЛ-4, ИЛ-5**, ИЛ-6 и другие цитокины, стимулирующие развитие В-клеток. Также они обеспечивают переключение синтеза иммуноглобулинов с IgM на другие классы. **Фолликулярные хелперы** активируют превращение фолликулярных В-лимфоцитов в *долгоживущие плазматические клетки*, секретирующих антитела, и в *В-клетки памяти*.

Зрелые В-клетки экспрессируют широкую панель **CD-маркеров**, таких как CD19, CD20, CD21, CD22, CD40, CD72, рецепторы к компонентам системы комплемента.

Тем не менее, некоторые полимерные антигены с высокой молекулярной массой и выраженным зарядом (так называемые *T-независимые антигены*) могут непосредственно стимулировать В-лимфоциты без помощи Т-клеток. Многие из этих антигенов – микробного происхождения (полисахариды и липиды, бактериальные белки, такие как флагеллин и др.).

Установлено, что основная доля В-клеток, реагирующих на Т-независимые АГ, относится к минорной **В-1 субпопуляции**, представленной главным образом в слизистых оболочках органов и тканей.

В-1 субпопуляция появляется в онтогенезе раньше, чем основная часть В-лимфоцитов. Они происходят из стволовых клеток фетальной печени. В слизистых оболочках В-1 клетки способны к самообновлению без поддержки со стороны костного мозга.

После трансформации в плазмоциты они продуцируют *полиспецифические естественные антитела*, которые связываются со многими микробными структурами. Естественные АТ относятся, главным образом, к классу IgM и в меньшей степени к отдельным подклассам IgG и IgA. Такие АТ поддерживают первую линию защиты макроорганизма от патогенных возбудителей. Иногда, однако, из-за своей полиспецифичности естественные АТ могут запускать аутоиммунные реакции, связываясь с собственными клетками и тканями.

Показано также, что около половины IgA-секретирующих клеток слизистой кишечника ведут свое происхождение от линии В-1 лимфоцитов.

Таким образом, В-1 субпопуляция является особой фракцией В-лимфоцитов, поддерживающей **врожденный гуморальный иммунитет**.

Сходные функции выполняются также зрелыми В-лимфоцитами маргинальной зоны селезенки.

ГЛАВА 2. АНТИГЕНЫ

Антигены

Антигены (АГ) – это любые вещества и структуры, которые при попадании в организм вызывают иммунную реакцию и способны специфично взаимодействовать с продуктами этой реакции: антителами (АТ) и антиген-специфическими рецепторами.

Термин «антиген» появился в начальный период развития иммунологии и произошел от англ. слов *antibody+generator*, что означает «генератор антител» или иначе – «субстанция, которая порождает антитела».

Основными свойствами антигенов являются **иммуногенность** и **специфичность**.

Под **иммуногенностью** понимают способность антигена индуцировать в организме иммунную реакцию. **Специфичность** определяется взаимодействием антигена только с **комплементарными** ему антителами или рецепторами определенного клона В- или Т-клеток. Сама комплементарность зависит от структурного, конформационного и зарядового соответствия между активными центрами АТ и АГ.

Иммуногенность (или шире – **антигенность**) зависит от целого ряда свойств потенциального антигена.

В первую очередь, это **чужеродность**, т.е. существенное отличие от «своего». Собственные молекулы, клетки и ткани воспринимаются системой иммунитета как «свое», тогда как АГ распознается системой иммунитета как «чужое».

Антигенность зависит от *природы, химической структуры и молекулярной массы* АГ. Сильные иммуногены – это, как правило, соединения с **высокой молекулярной массой**, выраженным зарядом и **сложной** пространственной **структурой** (наличием в молекулах разветвленных цепей, боковых радикалов, ароматических и гетероциклических остатков и т.д.).

Принято считать, что молекулы с массой менее 10 000 Да обладают слабой иммуногенностью; небольшие соединения-мономеры (глюкоза, аминокислоты, нуклеотиды), большинство

неорганических соединений (хлорид натрия и т.п.) не являются иммуногенными.

Однако молекула инсулина (мол. масса – около 5,8 тыс. Да) при введении ее в организм животных другого вида становится сильным иммуногеном, тогда как молекулы декстрана при своей массе 50-100 тыс. Да – слабые иммуногены.

Поэтому гомополимерные соединения (т.е., состоящие из 1 вида мономеров) в целом менее иммуногенны в сравнении с гетерополимерами.

Белки, полисахариды и комплексные соединения (гликопротеины, липопротеины, нуклеопротеины) обычно являются **сильными АГ**, тогда как **липиды и нуклеиновые кислоты** в чистом виде **мало иммуногенны**.

Распад белков до пептидов и аминокислот, их глубокая денатурация ведут к потере антигенной активности. Химическая модификация молекулы белка может изменять антигенную специфичность.

На иммуногенность АГ существенно влияет **состояние макроорганизма**, особенности его генотипа и метаболизма. Например, две линии одного и того же вида животных по-разному реагируют на одинаковый АГ из-за различий в генах, контролирующих иммунный ответ.

Дозировка, способы и сроки введения АГ также имеют прямую связь с его иммуногенностью – иммунный ответ меняется при изменении дозы, способа применения (парентерально, перорально, накожно, ингаляторно и т.д.) и времени введения АГ, включая интервалы между дозами.

Иммуногенность антигена значительно повышается при его совместном введении с **адъювантом**. **Адъюванты** – это вещества-неспецифические **усилители иммунного ответа**. К ним относятся гидрооксид алюминия, полиэлектролиты, компоненты пептидогликана бактерий и др. Они создают депо АГ в месте введения, стимулируют антигенпредставляющие клетки, активируют антителообразование.

Иммунная реакция развивается против определенных участков антигена. Антитела и антигенспецифические рецепторы направлены не ко всему АГ в целом, а к специфическим группам в его молекуле, известным как **антигенные детерминанты** или **эпитопы**.

Эпитоп является наименьшей единицей комплексного антигена, который способен связываться с антителом или АГ-специфическим рецептором. Соответствующий **сайт в молекуле антитела**,

способный взаимодействовать с одним эпитопом, получил название **паратоп**.

В молекулах больших белков в состав эпитопа могут входить 10-20 аминокислотных остатков. Его активность зависит как от первичной последовательности, так и конформации белка. Размеры эпитопа не превышают нескольких нанометров.

Сложные структуры микроорганизмов, такие как бактериальная клеточная стенка, имеют в своем составе 100 и более различных антигенных детерминант.

Выделяют **полные** и **неполные** антигены. Неполные АГ также называют **гаптенами**.

Полные (полноценные) АГ самостоятельно вызывают интенсивный иммунный ответ в стандартных условиях.

Гаптены – это низкомолекулярные вещества, которые в обычных условиях не вызывают иммунную реакцию. Однако при связывании с высокомолекулярными молекулами-«**носителями**» они становятся иммуногенными. К гаптенам относятся многие аллергены, лекарственные препараты и большинство химических веществ. Они способны запускать иммунный ответ после связывания с белками организма, например с альбумином, а также с белками и другими молекулами на поверхности клеток (эритроцитов, лейкоцитов). При повторном введении гаптены уже могут вызывать иммунные реакции самостоятельно.

Антигены различного происхождения

Различают **экзогенные** и **эндогенные** АГ. **Экзогенные АГ** поступают в организм извне, таких антигенов большинство; **эндогенные АГ** образуются из внутренних структур организма.

По происхождению экзоАГ разделяются на **инфекционные** и **неинфекционные**. В свою очередь, **инфекционные АГ** делятся на антигены **бактерий**, включая их **экзо- и эндотоксины**, антигены **вирусов, грибов, простейших**.

Основные бактериальные АГ

Бактериальная клетка представляет собой сложный комплекс антигенов, который включает высокомолекулярные соединения

белковой и полисахаридной природы и их различные сочетания с липидами и нуклеиновыми кислотами.

В зависимости от локализации у бактерий различают основные *O*-, *H*- и *K*-антигены.

Большинство бактерий содержат ***O*-АГ** – антиген **клеточной стенки** или **соматический АГ**. По своей природе – это **полисахарид** бактериальной клеточной стенки. Он **термостабилен**, выдерживает нагревание до 80-100°C.

У грамотрицательных бактерий *O*-АГ является компонентом их **липополисахарида (ЛПС)**. В свою очередь, ЛПС *Гр*(-) бактерий обладает выраженными свойствами **эндотоксина** из-за присутствия в своей структуре **липида А**.

Уже в небольших дозах ЛПС вызывает лихорадку посредством активации макрофагов через *CD14* и *TLR-4* с выделением ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО α и других **провоспалительных цитокинов**, поликлональную активацию В-лимфоцитов, дегрануляцию гранулоцитов, агрегацию тромбоцитов. Он может связываться с любыми клетками организма, но особенно активно – с макрофагами, дендритными клетками. В больших дозах угнетает фагоцитоз, вызывает нарушения функции сердечно-сосудистой системы, расстройства микроциркуляции и тромбозы, приводящие к **эндотоксическому шоку**. ЛПС некоторых бактерий входит в состав иммуностимуляторов (продигиозан, пирогенал).

O-АГ определяет антигенную специфичность клеточной стенки, и по нему различают множество серологических вариантов бактерий внутри одного вида.

Разновидностью *O*-АГ являются **пептидогликаны** клеточной стенки бактерий. Полученные из них фракции мурамилпептидов обладают сильным адьювантным эффектом в отношении клеток системы иммунитета.

***H*-АГ** входит в состав бактериальных **жгутиков**, основа его – белок **флагеллин**. Данный АГ **термолабилен**, и легко разрушается при температуре 56-80°C. Определяет групповую и типовую принадлежность бактерий.

***K*-АГ** – это гетерогенная группа наиболее поверхностных, **капсульных АГ** бактерий. Они состоят из сложных **полисахаридов**. Антигенная специфичность многих бактерий определяется их *K*-антигеном. Например, у *S. pneumoniae* по нему различают более 80 антигенных вариантов (сероваров). Капсульные АГ широко встречаются также у энтеробактерий. В частности, *K*-антигены *E. coli*

содержат термолабильные В- и L-фракции и термостабильные А- или М-фракции.

Вариантом К-антигена у сальмонелл брюшного тифа является термолабильный **Vi-АГ**; сальмонеллы с Vi-АГ выделяют от лиц-бактерионосителей.

У бактерий различают также *группо-, видо- и типоспецифические* антигены.

Общие *групповые АГ* часто обнаруживают среди родственных видов микроорганизмов. Их наличие определяется генетическими и фенотипическими связями между ними.

Видоспецифические антигены характеризуют отдельные виды бактерий.

Наконец, существует большое количество **типоспецифических антигенов**, характеризующих отдельные бактериальные штаммы, изоляты и варианты внутри одного вида (*серологические варианты* или *серовары*). Такой тип специфичности обычно связан с наличием уникальных полисахаридных или белковых остатков в отдельных микробных клетках.

Антигенная мимикрия – это состояние, когда АГ бактерий или вирусов проявляют *схожие антигенные свойства* с компонентами клеток человека и животных.

Если структуры организма хозяина напоминают АГ возбудителей, реакции иммунитета могут оказаться слабыми и малоэффективными. В частности, бактерионосительство или невосприимчивость к вакцинации могут быть связаны с антигенной мимикрией антигенов бактерий и человеческого тела.

С другой стороны, микробный антиген, способный к мимикрии, может индуцировать **аутоиммунные реакции**. В частности, *М-белок стрептококка* способен вызвать аутоиммунную реакцию с продукцией аутоантител к белкам миокарда и эндокарда человека. В этом случае аутоиммунная атака вызывает повреждение миокарда и клапанов сердца, типичное для пациентов с ревматической лихорадкой.

У разных видов микроорганизмов, растений или животных обнаружены также «*гетерофильные*» АГ и гаптены с общими свойствами. Их перекрестная специфичность обычно связана с присутствием липидных или полисахаридных фракций со сходным строением (например, гликолипидный АГ Форссмана, общий для морских свинок, кошек, собак, рыб, черепах, некоторых растений, а также выявленный на эритроцитах барана и у пневмококков). Такое сходство напоминает явление антигенной мимикрии.

Протективный АГ является антигенным комплексом, который развивает *сильную иммуногенную активность*. Иммунная реакция против протективных антигенов может предотвратить заражение соответствующим возбудителем. Подобные АГ – кандидаты для включения в состав вакцин. С другой стороны, они могут участвовать в патогенезе инфекционных заболеваний (протективный АГ бацилл сибирской язвы).

Микробные токсины также обладают выраженными антигенными свойствами. При этом после обработки бактериальных экзотоксинов *формальдегидом* они теряют свою токсическую активность, но практически полностью сохраняют свои антигенные функции. Такие препараты известны как **анатоксины** или *токсоиды*. Эти биологические продукты используются в медицине в качестве высокоэффективных вакцин, например, против дифтерии и столбняка. Иммунизация доноров крови или животных анатоксинами позволяет получить антитоксические терапевтические антитела и сыворотки против дифтерии, столбняка, ботулизма, анаэробной инфекции и т.д.

Суперантигены

Существует группа макромолекул, известная как **суперантигены**. В минимальных концентрациях они показывают очень высокую биологическую активность.

Суперантигены могут стимулировать до 20% от общего количества Т-лимфоцитов. Для сравнения, традиционные антигены активируют не более 0,001%-0,01% всех Т-клеток.

Механизм такого действия заключается в следующем – как и обычные АГ, суперантигены распознаются Т-клетками через Т-клеточный рецептор, однако их связывание с ТКР отличается от стандартных АГ. Суперантигены имеют выраженное сродство к некоторому общему участку, расположенному во многих переменных доменах Т-клеточных рецепторов (V β -варианты ТКР). Одновременно они контактируют с молекулами HLA на антигенпредставляющих клетках. Тем самым суперантигены одномоментно активируют большое число Т-лимфоцитов с *интенсивной продукцией провоспалительных цитокинов* Т-клетками и макрофагами (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, гамма-интерферон, ФНО и т.д.) Такая бурная активация вызывает локальное или системное воспаление с тяжелым повреждением тканей.

Значительное количество *бактериальных токсинов* (например, у стафилококков и стрептококков) относится к *суперантигенам*.

Установлены также *В-клеточные суперантигены*, которые перекрестно связывают вариабельные участки антительных ВКР (мембранных рецепторов). Они могут запускать как *апоптоз В-лимфоцитов*, так и вызывать их *поликлональную активацию*.

Антигены вирусов

У большинства вирусов имеются *суперкапсидные* АГ – белковые и гликопротеиновые АГ внешней оболочки вируса, такие как гемагглютинин и нейраминидаза вируса гриппа, *капсидные* – оболочечные белковые АГ и *сердцевинные* нуклеопротеиновые АГ.

Различные вирусные роды и виды могут иметь множество антигенных вариантов (*серотипов*). Это относится к энтеровирусам, аденовирусам, реовирусам и мн. другим

Так, например, разделение вируса гриппа на типы А, В и С основано на антигенной изменчивости нуклеокапсидного антигена NP. Дальнейшее деление вируса гриппа типа А на подтипы обусловлено антигенными различиями рецепторных гликопротеинов – гемагглютенина и нейраминидазы; к настоящему времени известно 18 подтипов гемагглютенина и 11 нейраминидазы.

Все эти вирусные белки имеют сильную иммуногенность и приводят к образованию вируснейтрализующих антител.

Определение вирусных антигенов в биологических материалах широко используется для диагностики вирусных инфекций. Наиболее иммуногенные протективные пептиды вирусов используются для создания современных вакцин.

Неинфекционные антигены

К *неинфекционным антигенам* относятся антигены клеток и тканей растений, животных и человека; химические природные и синтетические вещества, включая лекарственные средства.

Многие неинфекционные АГ могут являться *аллергенами*, т.е. после их проникновения в организм развивается аллергическая реакция с повреждением тканей.

В зависимости от *видовой принадлежности* выделяют:

– **ксеногенные** антигены или межвидовые АГ – антигены, отличающие виды друг от друга, например, биомолекулы животных при их введении человеку становятся одними из наиболее сильных АГ;

– **аллоантигены** (более раннее их название – *изоантигены*) – внутривидовые АГ, отличающие представителей одного вида друг от друга;

– **аутоантигены** – собственные молекулы организма, на которые из-за нарушения толерантности развивается иммунная реакция.

Среди множества клеточных АГ по их *локализации в клетке* различают ядерные, цитоплазматические, микросомальные, митохондриальные, мембранные антигены.

Аллоантигены человека. Антигены групп крови.

Обширный набор аллоантигенов был идентифицирован в эритроцитах млекопитающих.

К настоящему времени у человека установлено более 15 систем аллоантигенов крови, включающих около 100 видов отдельных АГ.

Основное деление групп крови у человека происходит по системе **аллоантигенов АВО** (согласно отечественной традиции произносится как «А-Б-ноль»). Эти аллоАГ еще называют **изоагглютиногенами**. По своей природе они представляют собой **полисахариды**, соединенные с белками мембран. Данные АГ присутствуют на всех клетках организма человека.

Исходной структурой для образования различных форм агглютиногенов является полисахаридный О-АГ. В 9 хромосоме человека содержится ген, кодирующий ферменты-гликозилтрансферазы. Они которые гликозилируют О-АГ (). Данный ген имеет 3 аллельных варианта. При наследовании разных аллелей гена от родителей они экспрессируются кодоминантно.

Один из этих аллелей кодирует неактивный вариант фермента. У таких лиц дальнейшего гликозилирования О-АГ не происходит (при гомозиготном наследовании).

Два других аллеля кодируют ферменты гликозилтрансферазы с разной специфичностью. Они выполняют дополнительное гликозилирование О-АГ с образованием основных АГ групп крови – **агглютиногенов А и В**. При этом сыворотки этих лиц содержат

бета- и альфа-агглютинины – естественные антитела класса IgM, направленные к соответствующим агглютиногенам.

Таким образом, по наличию А и В антигенов и соответствующих им естественных антител (α – альфа и β – бета) различают 4 группы крови у человека: О(I) – нет антигенов, есть α и β -антитела, А(II) – присутствует только А антиген и β -антитела, В(III) – есть В-АГ и α -антитела, АВ(IV) – есть оба АГ, нет антител.

Совместимость по системе АВО играет важнейшую роль не только при гемотрансфузиях, но и при трансплантациях других тканей и органов.

Весьма распространенной системой аллоАГ групп крови является система **резус-фактора**. Данный белковый АГ был впервые обнаружен у обезьян-макак вида резус. Около 85% людей имеют эритроциты, экспрессирующие резус-антиген **D** (резус-положительные лица, **Rh+** или **RhD**). Остальные 15% лиц являются резус-отрицательными. Совместимость по резус-АГ также необходимо учитывать при проведении гемотрансфузий.

Широкое разнообразие аллоантигенов полисахаридной и белковой природы представлено также в других эритроцитарных системах антигенов человека, таких как MNS, Льюис, Келл, Даффи и мн. др.

Антигены главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) человека – HLA система

Аллоантигены человека, входящие в **главный комплекс гистосовместимости** (или **ГКГ**), были исходно выявлены на лейкоцитах. Изначально они определялись как **трансплантационные антигены** – мембранные гликопротеины, отвечающие за прогрессирующее отторжение аллотрансплантатов тканей и органов после их пересадки между генетически неидентичным донором и реципиентом.

Данный комплекс антигенов человека получил название **HLA-системы** (от англ. *human leukocyte antigens* – человеческие лейкоцитарные антигены).

Впоследствии, однако, было установлено, что **основная функция молекул HLA** – это **связывание пептидных антигенов и представление их Т-лимфоцитам**.

Т-клеточный рецептор (ТКР) способен специфически связывать АГ только в том случае, если он представлен в комплексе с молекулой HLA. При этом ТКР *одновременно* распознает антигенный пептид и связанную с ней молекулу HLA (феномен *«двойного распознавания»*).

Таким образом, молекулы HLA обеспечивают распознавание пептидных антигенов Т-клеточными рецепторами.

По существу, исходное название – «HLA-антигены» неточно, так как эти молекулы становятся антигенами, лишь поступая в другой организм (пересадка тканей, переливание цельной крови или лейкоцитарной массы и т.п.). Для индивидуальной системы иммунитета собственные молекулы HLA неантигенны.

Гены HLA-комплекса кодируют 3 класса молекул гистосовместимости – **HLA-I**, **HLA-II** и HLA-III. Они образуют большой генетический кластер, расположенный в 6-й хромосоме.

Гены класса I занимают дистальное положение на коротком плече 6 хромосомы, гены класса II расположены ближе к центromере.

В *связывании* и *представлении* пептидных АГ Т-клеткам принимают участие *только* молекулы **HLA I** и **II** классов.

Гены класса III кодируют другие факторы иммунитета – отдельные белки *системы комплемента* и некоторые цитокины (фактор некроза опухоли – ФНО).

Генетическая организация системы HLA обладает рядом уникальных особенностей.

Комплекс HLA – *полигенный*.

Установлено 3 основных генетических локуса, кодирующих молекулы HLA **I класса** (**HLA-A**, **-B** и **-C**), и 3 основных локуса для молекул **II класса** (**HLA-DP**, **-DQ** и **-DR**). При этом гены II класса имеют локусы A и B, кодирующие комбинацию 2-х белковых цепей, образующих молекулу HLA-II. Существует также ряд минорных генетических локусов.

Гены комплекса HLA чрезвычайно *полиморфны*. Методами генотипирования выявлено, что каждый из локусов имеет *множество аллельных вариантов*. Установлено более 2-х или 3 тыс вариантов аллелей HLA-A, B или C, и несколько десятков тысяч комбинаций аллельных вариантов генов HLA II класса – DP, DQ и DR. У каждого человека имеется свой набор аллельных вариантов генов HLA.

Совокупность HLA генов, *присутствующих в одной хромосоме*, наследуется как *единая группа сцепления* или *гаплотип*. Каждый

человек наследует один гаплотип HLA от матери и один от отца и тем самым приобретает 12 вариантов основных антигенов гистосовместимости I и II класса.

HLA-гены I и II класса экспрессируются **кодминантно** – наборы генов HLA, унаследованные от обоих родителей, проявляются одновременно, что увеличивает разнообразие индивидуального HLA комплекса.

Таким образом, максимальный полиморфизм генов HLA и особенности их наследования определяют множество индивидуальных отличий по антигенам гистосовместимости у разных людей.

В ходе экспрессии генов HLA образуются **мембранные молекулы** («антигены») **HLA I и II классов**. Они синтезируются в цитоплазме клеток, а затем представляются на клеточных мембранах.

Молекулы HLA класса I в разных количествах присутствуют на **всех ядродержащих клетках** человека (помимо клеток трофобласта). Их много на лимфоцитах, меньше – на клетках печени, легких, почек, самая низкая плотность – на клетках мозга и скелетных мышц. Тем самым **HLA I** являются **маркерами «своего»** – собственных неизмененных клеток.

По структуре мембранная **молекула HLA класса I** состоит из двух цепей. Тяжелая цепь с молекулярной массой 43 кДа является **полиморфной** – она имеет чрезвычайно большое количество аллельных вариантов для всех трех видов HLA-A, -B и -C антигенов.

Часть тяжелой цепи, выступающая за пределы клеточной мембраны, состоит из трех глобулярных доменов (α_1 , α_2 и α_3). Эти домены нековалентно связаны с небольшим белком **β_2 -микроглобулином** (мол. масса 11 кДа). Тем самым, молекула HLA-I представляет собой **гетеродимер**.

В отличие от тяжелой цепи, β_2 -микроглобулин **одинаков** по структуре во всех молекулах HLA I класса. Кодирующий его ген не связан с комплексом HLA (локализован в 15-й хромосоме).

Молекулы HLA II класса являются трансмембранными гликопротеинами, которые состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей (**α - и β -цепей** с молекулярной массой около 33 кДа и 29 кДа). Каждая цепь имеет 2 внешних глобулярных домена (α_1 - α_2 и β_1 - β_2 , соответственно). Обе цепи **чрезвычайно полиморфны**.

В сравнении с молекулами класса I, они представлены на ограниченной группе клеточных популяций. В первую очередь антигены **HLA II класса** экспрессируются на мембранах

профессиональных *антигенпредставляющих клеток* (дендритных клетках), а также на В-лимфоцитах, макрофагах, активированных Т-клетках.

Их появление на других типах клеток (например, на эндотелии) может быть вызвано гамма-интерфероном и другими цитокинами.

Основная функция HLA-молекул – связать чужеродный пептидный антиген и представить его для распознавания Т-клеточному рецептору – реализуется различными способами.

Во всех случаях белковый антиген должен подвергаться *протеолизу* в клеточной цитоплазме с образованием набора *коротких пептидов* (*процессинг* антигена). Образующиеся пептиды начинают взаимодействовать в цитоплазме с молекулами HLA. Молекулы HLA обоих классов имеют глубокую щель между двумя цепями для связывания специфического антигенного пептида после его распознавания. Из всего спектра антигенных пептидов только некоторая их часть может подобрать и специфически связаться с молекулой HLA индивидуального организма. Тем самым пептиды, не реагирующие с молекулой HLA, будут ускользать от Т-клеточного иммунного ответа.

Существуют значительные отличия во взаимодействии HLA-молекул с *экзо-* и *эндоантигенами*.

Поступающие извне *экзоантигены* (например, бактериальные или грибковые АГ) после их захвата АПК (дендритными клетками и др.) подвергаются протеолизу в эндосоме. В этом случае пептиды размером 12-25 аминокислотных остатков *связываются* в основном с *молекулами HLA класса II* (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ) и представляются *Т-хелперным* клеткам.

Напротив, *эндоантигены*, возникшие внутри клеток организма после их вирусной инфекции или опухолевой трансформации, обрабатываются внутри протеасомы – цитоплазматического комплекса ферментов-протеаз. Фрагменты *эндоантигена* в 9-10 аминокислотных остатков *соединяются* преимущественно с *молекулами HLA класса I* (HLA-A, HLA-B, HLA-C). Данный АГ представляется *Т-цитотоксическим лимфоцитам*. Активация цитотоксических Т-клеток приводит к гибели вирус-инфицированных или трансформированных клеток.

Все эти взаимодействия обеспечивают максимальную стимуляцию *клеточно-опосредованного иммунитета*.

Определение индивидуального набора HLA-антигенов у пациентов (*HLA-типирование*) требуется в ряде клинических

случаев. Основной причиной для этого является *подбор пары «донор-реципиент»* при трансплантации органов и тканей.

Также обнаружена сильная корреляция между некоторыми вариантами HLA-антигенов и отдельными заболеваниями. Так, например, наличие аллеля ***HLA-B27*** наблюдается более чем у 95% пациентов с анкилозирующим спондилоартритом (аутоиммунное заболевание позвоночника и суставов).

Кроме того, сочетание HLA-DR3 и HLA-DR4 выявляется с высокой частотой у пациентов с сахарным диабетом I типа.

Молекулы CD1, представляющие липидные антигены

CD1 антигены – это особая группа антигенпредставляющих молекул. Они находятся на поверхности всех АПК, а также на мембранах тимоцитов, Т-лимфоцитов.

Основная ***функция CD1 молекул*** – связывание и представление липидных антигенов. По структуре CD1 антигены сходны с HLA молекулами I класса главного комплекса гистосовместимости. Однако в отличие от HLA I класса CD1 молекула имеет антигенсвязывающий участок, отличающийся выраженной гидрофобностью. Это обеспечивает ее прочное специфическое связывание с липидными антигенами.

Генетический локус, кодирующий CD1 антигены, находится в 1-й хромосоме. Он включает не менее 5 различных генов (CD1a-e). Фенотипически семейство CD1 антигенов делится на 2 основные группы. Группа 1 включает CD1a, b, c варианты, в группу 2 входят CD1d молекулы. CD1 АГ 1 группы связывают многие микробные антигены липидной природы, например, АГ микобактерий. CD1d АГ 2 группы могут представлять как экзогенные (например, АГ простейших), так и аутоантигены.

Молекулы CD1 представляют антигены различным субпопуляциям Т-лимфоцитов и *NKT-клеткам*.

Аутоантигены

Аутоантигены – это АГ собственных клеток и тканей организма, на которые развивается иммунная (*аутоиммунная*) реакция.

АутоАГ обычно становятся иммуногенными после определенных структурных и функциональных изменений.

Одна группа аутоантигенов принадлежит к структурам организма, расположенным *за гистогематическими барьерами* между кровью и тканями. К ним относятся хрусталик глаза (гематоглазной барьер), семенники и сперматозоиды, щитовидная железа, клетки ЦНС (гематоэнцефалический барьер) и некоторые другие.

В обычных условиях они не вступают в контакт с системой иммунитета («*забарьерные*» органы и ткани). При нарушении тканевых барьеров, например, после травмы или воспаления, АГ данных органов становятся доступными для системы иммунитета. На них появляются аутоантитела и аутореактивные Т-лимфоциты, которые могут вызывать повреждение ранее изолированных тканей и органов.

Возникновение аутоантигенов, т.е. модификация собственных клеток, может происходить под действием различных *внешних факторов*. К ним относятся радиация, массивное разрушение тканей, холодовая и ожоговая травма, действие некоторых лекарственных средств (препараты коллоидного золота, нестероидные противовоспалительные средства, сульфаниламиды и др.), а также действие бактериальных токсинов или активность вирусов (например, при инфекционном мононуклеозе, вирусных гепатитах и многих других вирусных инфекциях).

Вариантом подобных изменений является появление *патологических аутоантигенов* после глубокого необратимого повреждения макромолекул, клеток и тканей (при ожоговой болезни, у онкопациентов после облучения, при синдроме длительного сдавления тканей и других аналогичных случаях).

ГЛАВА 3. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ И АНТИТЕЛА

Иммуноглобулины (ИГ) – это большое семейство белков, которые синтезируются В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Они присутствуют в крови и других биологических жидкостях (слезная жидкость, ротовая жидкость, слизь носа, бронхов, кишечника, половых органов и т.д.).

Фракция ИГ составляет около 20% от всех белков плазмы крови. При электрофорезе белков сыворотки молекулы ИГ мигрируют в зоне γ -глобулинов.

Все молекулы иммуноглобулинов состоят из **легких** (англ. *L – light*) и **тяжелых** (англ. *H – heavy*) белковых **цепей**. Названия цепей происходят от их молекулярной массы: масса легкой цепи – около 25 кДа, тяжелой цепи – 50 кДа.

Легкая L-цепь представлена двумя изотипами – κ (*каппа*) или λ (*лямбда*); деление основано на аминокислотных различиях в их константных областях. Оба изотипа могут быть в любом классе ИГ, но одна молекула иммуноглобулина содержит только один тип L-цепи.

Тяжелые H-цепи различны для каждого из пяти классов иммуноглобулинов. Они определяют принадлежность иммуноглобулинов к соответствующему классу: IgG имеют тяжелую гамма-цепь (γ), IgA – альфа (α), IgM – мю (μ), IgD – дельта (δ), IgE – ϵ (эпсилон).

Молекула ИГ имеет в составе несколько одинаковых легких и тяжелых цепей. Наиболее просто устроена молекула ИГ класса IgG. Она состоит из четырех полипептидных цепей: двух H-цепей и двух L-цепей. Эти четыре цепи соединены друг с другом дисульфидными связями (рис. 3.1).

В обеих цепях молекул иммуноглобулинов различают **константные** (постоянные, *C*) и **вариабельные** (*V*) **области**. Все области содержат **глобулярные структуры** или **домены**.

L-цепь состоит из одного вариабельного домена (VL) и одного константного домена (CL). H-цепи состоят из одного вариабельного домена (VH) и трех или более константных доменов (CH). **Вариабельные** области ответственны за **связывание с антигеном**; константные отвечают за другие функции ИГ.

Гипервариабельные участки, где часты замены аминокислот, относятся к *регионам, определяющим комплементарность* иммуноглобулиновых молекул. Эти регионы локализованы в доменах тяжелой (VH) и легкой (VL) цепей. Они формируют **активный центр** молекулы иммуноглобулина (антитела), известный как **паратоп**. Он связывается с отдельной **антигенной детерминантой** или **эпитопом**.

Сила связывания одного активного центра молекулы АТ (паратопа) с одним эпитопом получила название «**аффинность**» АТ.

Количество активных центров в одной молекуле АТ или АГ, участвующих во взаимодействии – их **валентность**.

Прочность связывания всей молекулы АТ (всех ее активных центров) с поливалентным АГ называется «**авидность**». Авидность пропорциональна аффинности и валентности АТ и АГ.

Между CH1 и CH2 доменами тяжелой цепи локализуется подвижный – **"шарнирный" участок** молекулы иммуноглобулина, чувствительный к протеолитическим ферментам (папаину, пепсину, трипсину). В шарнирной области молекула ИГ подвижна. Когда ИГ связывает антиген, его конформация меняется.

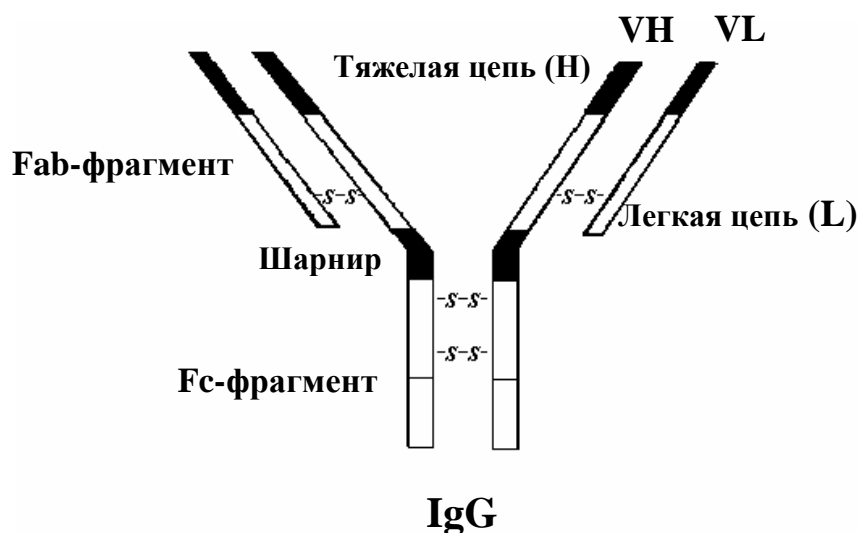


Рис. 3.1. Структура молекулы иммуноглобулина G

Под действием папаина молекула иммуноглобулина G в области «шарнира» расщепляется на 2 **Fab-фрагмента** (англ. *fragment antigen binding* – фрагмент, связывающий антиген) и один **Fc-фрагмент** (англ. *fragment crystallizable* – фрагмент кристаллизующийся).

Два одинаковых ***Fab-фрагмента*** содержат активные центры АТ (паратопы) и отвечают за ***связывание АГ***.

СН2 домен ***Fc-фрагмента*** иммуноглобулина активирует ***комплемент*** по классическому пути, а ***СН3*** домен может связываться с ***Fc-рецепторами*** лейкоцитов и других ***клеток***. Fc-фрагмент обеспечивает также прохождение молекулы IgG через плаценту.

Классы иммуноглобулинов

Иммуноглобулин G

Каждая молекула IgG состоит из двух L-цепей и двух H-цепей, соединенных дисульфидными мостиками. Молекулярная масса IgG составляет около 150 кДа. Его концентрация в сыворотке составляет 8-12 г/л (в среднем около 10 г/л).

Из-за двух идентичных антигенсвязывающих сайтов IgG является двухвалентным. Существует четыре подкласса (IgG1-IgG4), различающихся по строению H-цепей. Подкласс IgG1 составляет около 65% от общего IgG; он выполняет основную защитную функцию в иммунном ответе. IgG2 направлен против полисахаридных антигенов и является важной частью иммунной защиты против капсульных бактерий. ИГ подкласса IgG4 могут принимать участие в аллергических реакциях.

Антитела класса ***IgG*** доминируют при ***вторичного иммунном ответе***. Они обладают ***максимальной аффинностью***.

Кроме того, IgG активирует систему комплемента по классическому пути, а также является эффективным ***опсоином***, активируя ***фагоцитоз***.

IgG – единственный класс иммуноглобулинов, который ***проходит через плаценту***; тем самым антитела класса IgG играют важную роль в защите плода и новорожденных от инфекций.

Иммуноглобулин M

IgM является основным иммуноглобулином ***первичного иммунного ответа***. Антительный рецептор класса IgM находится на мембранах В-лимфоцитов.

IgM состоит из пяти идентичных субъединиц, каждая из которых сходна по строению с молекулой IgG. Они связаны дисульфидными связями через соединительную (от англ. – *joining*) ***J-цепь***.

Конечная **пентамерная** молекула IgM (мол. массой около 900 кДа) содержит десять идентичных антигенсвязывающих участков. Поэтому IgM обладает **максимальной авидностью**, несмотря на сравнительно невысокую аффинность.

Сывороточная концентрация IgM составляет от 0,8 до 1,5 г/л.

IgM создает первичную линию защиты против бактерий и вирусов. Он принимает участие в агглютинации микроорганизмов, активирует комплемент по классическому пути. Также IgM стимулирует фагоцитоз (функция **опсонина**)

Иммуноглобулин А

IgA является ведущим **секреторным иммуноглобулином**, присутствующим в биологических жидкостях и выделениях из слизистых (кровь, молоко, слюна, слезная жидкость, содержимое желудочно-кишечного тракта, отделяемое дыхательных, мочевыводящих и половых путей). Он защищает **слизистые оболочки** от проникновения патогенов извне, обеспечивая **местный иммунитет**.

Каждая молекула **секреторного IgA** (мол. масса ≈ 350 кДа) представляет собой **димер** или **тример** L- и H-цепей, связанных воедино J-цепью, с присоединенным к ним **секреторным компонентом**. Секреторный компонент обеспечивает транспорт молекулы IgA через эпителиальные клетки слизистых в биологические жидкости.

Часть IgA находится в крови, обычно в мономерной форме (мол. масса около 170 кДа). Диапазон сывороточных концентраций IgA составляет около 1,0-4,0 г/л.

Существует два подкласса иммуноглобулина А – IgA1 и IgA2.

Секреторные IgA (sIgA), будучи антителами, препятствуют адгезии микроорганизмов к эпителию слизистых оболочек, опсонизируют микробные клетки, усиливают фагоцитоз, активируют комплемент по альтернативному пути.

Иммуноглобулин Е

Молекулярная масса IgE равна ≈ 190 кДа. Его концентрация в сыворотке минимальна и выражается в международных единицах (МЕ). Одна МЕ эквивалентна 2,4 нг IgE. Диапазон концентраций сывороточного IgE варьирует в пределах 0-100 МЕ в 1 мл сыворотки.

Антитела класса **IgE** играют ведущую роль в **аллергии немедленного типа**. Они являются основными участниками

анафилактических аллергических реакций. При этом Fab-фрагмент IgE связывается с аллергеном, а его Fc-фрагмент – с рецептором на поверхности тучных клеток и базофилов, что стимулирует их дегрануляцию с выделением медиаторов аллергии.

Также IgE принимает участие в иммунитете против гельминтов и простейших.

Имуноглобулин D

IgD выступает в качестве одного из **рецепторов к антигену** на мембранах созревающих В-лимфоцитов. Его молекулярная масса составляет около 160 кДа. В сыворотке IgD присутствует только в следовых количествах (0,04 г/л).

Эффекторные функции иммуноглобулинов D до конца не ясны. Не исключается их участие в противовирусном иммунитете.

Антитела

Антитела – это **молекулы иммуноглобулинов** всех классов с установленной способностью **связываться со специфическим антигеном**, который стимулировал их образование.

Различают *естественные* и *иммунные* антитела.

Естественные АТ исходно присутствуют в организме без предварительного введения антигена (иммунизации). Они относятся, главным образом **к классу IgM**, а также отдельным подклассам IgG и IgA. Они **полиспецифичны**, и могут связываться с широким спектром патогенных возбудителей. Данные АТ в основном продуцируются В-1 субпопуляцией лимфоцитов.

Также примером естественных АТ являются α - и β -изогемагглютинины крови человека, направленные против А и В агглютиногенов эритроцитов.

Иммунные АТ накапливаются и выявляются в сыворотке крови после предварительной антигенной стимуляции.

Существуют антибактериальные, противовирусные, антитоксические, противогрибковые, противопаразитарные антитела.

Бивалентные АТ (обычно класса G), имеющие 2 активных центра, получили название **полных АТ**. Наряду с ними существуют моновалентные **неполные АТ**, у которых действует один связывающий активный центр из-за пространственной блокировки второго центра.

При иммунизации антигеном в сыворотке крови появляется широкий спектр специфических АТ с различной аффинностью. Это обусловлено тем, что антиген стимулирует большое количество клонов В-лимфоцитов. Получаемые таким образом **поликлональные иммунные антитела** и сыворотки представляют смесь иммуноглобулиновых молекул различных классов.

Иммунные комплексы образуются при взаимодействии активных центров молекул антител (**паратопов**) с **эпитопами** антигенов в нейтральной среде (рН 7,2-7,4). Связывание обусловлено **комплементарностью** их конформации и структуры. Эпитоп внедряется в «карман» активного центра АТ по принципу «ключ-замок». В процессе контакта они могут адаптироваться друг к другу, частично изменяя свою конформацию (принцип *индуцированного соответствия*).

Связь между паратопом и эпитопом – *нековалентная*, в контакте участвуют силы гидрофобного и электростатического взаимодействия, вандерваальсовы силы, водородные связи и т.д. Чем выше комплементарность АТ и АГ, тем сильнее связывание и аффинность АТ.

Взаимодействия антител и антигенов вызывают феномены **агглютинации, преципитации и лизиса**.

Механизмы действия антител

1. Блокада активных центров микробных токсинов (**токсиннейтрализующий эффект**), нейтрализация биологических ядов.

2. Образование комплекса антиген-антитело, который активирует комплемент с последующим лизисом клетки (**литический эффект** при участии комплемента).

3. **Опсонизация** объектов фагоцитоза (усиление фагоцитоза).

4. Стимуляция киллерного эффекта цитотоксических лимфоцитов и естественных киллеров через Fc-рецепторы (**антителозависимая клеточная цитотоксичность – АЗКЦ**).

5. Некоторые АТ обладают собственной медленной ферментативной активностью (**абзимная активность**) и могут гидролизовать ряд субстратов (нуклеиновые кислоты, белки).

Моноклональные антитела

Антитела, возникающие в ходе иммунного ответа на конкретный антиген в норме **поликлональны**, так как они синтезируются одновременно **многими клонами** плазматических клеток. Как результат, поликлональные АТ не являются однородными из-за отличий в строении их вариабельных участков (активных центров). При проведении искусственной иммунизации таким образом получают поликлональные иммунные сыворотки и препараты иммуноглобулинов.

Антитела, продуцируемые **единственным клоном** плазмоцитов, включая их опухолевый вариант (миеломные клетки) называются **моноклональными**. Такие АТ имеют идентичную аминокислотную последовательность, включая строение их активных центров. Вследствие этого они проявляют одинаковую аффинность и авидность (силу связывания) при взаимодействии с антигеном. Данные АТ моноспецифичны, направлены к одному эпитопу АГ.

Тем самым моноклональные АТ (**мАТ**) становятся стандартным иммунохимическим реагентом для обнаружения любого АГ.

Для **получения моноклональных антител** используется **соматическая гибридомная технология**.

В этом процессе **лимфоидную клетку, продуцирующую АТ** определенной специфичности, сливают («**гибридизируют**») с клеткой **опухоли из плазмоцитов** (**плазмоцитомы** или **миеломы**), которая не способна самостоятельно секретировать антитела. Образующаяся в результате гибридная клетка (**гибридома**) начинает синтезировать **мАТ**.

Гибридомная технология включает несколько стадий.

На первом этапе для получения антител проводят **иммунизацию** мышей инбредных линий необходимым антигеном. Антиген может быть в клеточной или растворимой форме. Из селезенки иммунизированных животных получают суспензию клеток (**спленоцитов**), среди которых есть антителообразующие В-лимфоциты.

Затем проводят **слияние** этих антителообразующих В-клеток, срок жизни которых невелик, с В-клетками мышинной опухоли – плазмоцитомы (делятся непрерывно, «бессмертные» клетки). Сама плазмоцитома к синтезу АТ не способна. Для этого клетки обрабатывают полиэтиленгликолем или воздействуют электрическим

полем. Объединение геномов данных клеток под одной клеточной мембраной приводит к появлению *гибридных* клеток.

Гибридные клетки приобретают *способность к синтезу специфических антител* (от иммунных В-лимфоцитов) и *становятся долгоживущими*, непрерывно делящимися (как плазмоцитома). Чтобы их выделить, смесь клеток после слияния культивируют в специальной среде, в которой не выживают исходные негибридные клетки.

Смесь гибридных клеток разбавляют до их минимального содержания – одна гибридная клетка на одну лунку с культуральной средой. Тем самым получают гибридные *клоны*, которые далее размножают (*клонировать*).

Гибридные культуры тестируют на продукцию специфических АТ. После их обнаружения соответствующий клон отбирают и накапливают. В результате он продуцирует моноклональные АТ, специфичные к единственному эпитопу изучаемого антигена.

Биомасса полученных гибридных клеток секретирует большие количества мАТ с идентичной специфичностью и сродством к АГ. Их очищают из культуральной среды и стандартизируют.

Из-за своей однородности моноклональные антитела стали чрезвычайно мощным инструментом в биологии и медицине, особенно в *иммунохимическом анализе*. Все клеточные маркеры (CD антигены, ферменты, сигнальные белки и т.д.) исследовались при помощи мАТ. Сейчас мАТ применяются в любом иммунологическом тесте (иммуноферментный, иммунофлюоресцентный, радиоиммунный анализы, иммуногистохимия и др.).

Многочисленные проблемы сопровождали использование *мАТ для терапии заболеваний* человека. Первые поколения терапевтических моноклональных антител были полностью мышинового происхождения. Тем самым они вызывали иммунную реакцию с образованием АТ к иммуноглобулинам мыши уже после нескольких инъекций. Для преодоления этого барьера в настоящее время проводят *гуманизацию* моноклональных АТ. В этом случае переменные участки антител мышинового происхождения связывают с константными участками ИГ человека, или полностью замещают последовательность ИГ мыши на ИГ человека генно-инженерными методами. Такие мАТ обладают сниженной иммуногенностью и активно применяются в терапии заболеваний человека.

С учетом чрезвычайно высокой специфичности мАТ данный метод лечения получил название **целевой** или «**таргетной**» (т.е. целенаправленной) **терапии**.

Целевая терапия широко применяется для лечения онкологических и аутоиммунного заболеваний, для предотвращения отторжения трансплантата, в последнее время – для лечения бронхиальной астмы и ряда вирусных инфекций. Основным препятствием, до сих пор ограничивающим применение лечебных мАТ, является высокая стоимость данной технологии.

Генетический контроль специфичности и разнообразия антител и Т-клеточных рецепторов (ТКР)

Общее количество специфичностей АТ в организме (известное как **репертуар антител**) чрезвычайно велико – для человека его оценивают на уровне 10^{11} вариантов или даже более.

Антитело уникальной специфичности синтезируется единственным клоном лимфоцитов и плазматических клеток. Тем самым очевидно, что практически любая чужеродная субстанция (антиген) при контакте с системой иммунитета находит достаточное число клонов лимфоцитов, имеющих специфические рецепторы (АТ) к эпитопам данного АГ. Таким образом, антиген «выбирает» антиген-специфические клоны лимфоцитов (**клональная селекция**) и активирует их пролиферацию – размножение и созревание (**клональная экспансия**). Это приводит к накоплению антиген-специфических иммунных клеток, которые в конечном итоге удаляют внедрившихся чужеродных агентов.

Огромное разнообразие иммунного репертуара человека основано на сложных и многофункциональных **генетических механизмах**.

Гены (генные сегменты), кодирующие тяжелую цепь иммуноглобулина человека, располагаются в 14-й хромосоме; гены легкой цепи каппа-изотипа – в пределах 2-й хромосомы, легкой цепи лямбда-изотипа – в 22-й хромосоме.

Вариабельные участки тяжелых цепей иммуноглобулинов кодируются тремя видами генных сегментов в 14-й хромосоме – **V** (англ. *variable* – переменный), **D** (англ. *diversity* – разнообразие) и **J** (англ. *joining* – соединяющий). Также в этой области хромосомы содержится 9 генных сегментов, кодирующих все виды

константных участков тяжелых цепей ИГ (от μ , до ϵ), которые определяют класс и подкласс молекулы ИГ.

Вариабельные участки *легких цепей* иммуноглобулинов кодируются 2-мя генными сегментами – V и J. Константная часть легкой каппа-цепи имеет 1 генный сегмент, в то время как константный участок лямбда-цепи – 4 функциональных генетических сегмента (λ_1 - λ_4).

Исходная (или **зародышевая**) конфигурация данных генов наблюдается в лимфоидных клетках-предшественниках в период эмбрионального развития (до начала дифференцировки).

Зародышевая конфигурация включает множество вариантов разных генных сегментов, кодирующих вариабельную часть молекулы ИГ.

Для тяжелой цепи существует около 50-100 различных генных V-сегментов, 20-30 версий сегментов D и 6 вариантов сегментов J. Все они располагаются линейно, следуя друг за другом вдоль хромосомы (см. рис. 3.2.).

Для легкой цепи известно около 30-40 сегментов гена V и нескольких копий сегмента J.

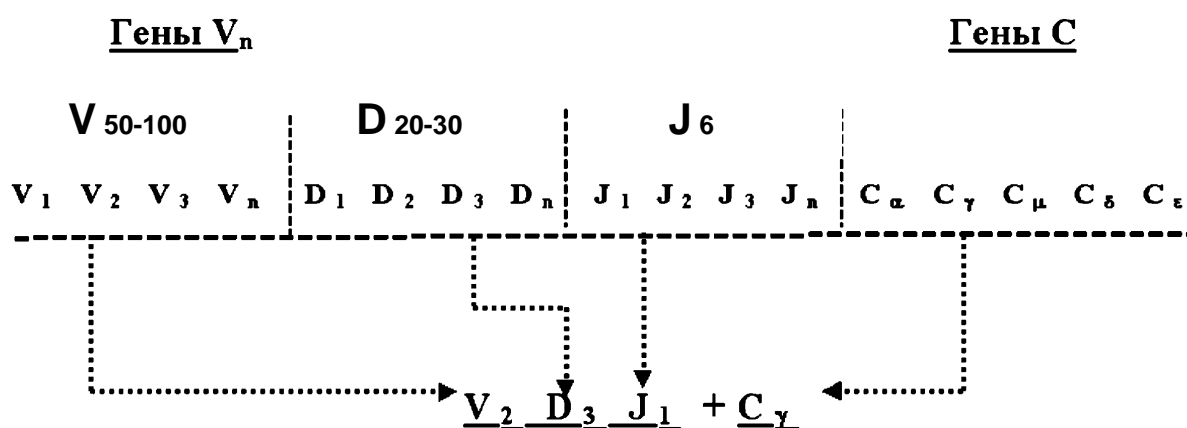


Рис. 3.2. Объединение (реаранжировка) генов тяжелой цепи IgG

Однако гены в зародышевой конфигурации не способны к экспрессии (транскрипции, трансляции) с образованием полноценного АТ-рецептора. Это возможно только в ходе дифференцировки В-клеток. Таким образом, созревание В-

лимфоцитов сопровождается интенсивной перестройкой генных сегментов, кодирующих участок связывания молекулы АТ (генетическая **реаранжировка**). В результате **множественных рекомбинаций** происходит случайный отбор и последующее соединение в единую цепь одиночных V, D, и J сегментов для тяжелой цепи ИГ (рис. 3.2.), а также одного V и J генного сегмента для легкой цепи.

Таким образом, любой зрелый клон В-лимфоцитов имеет в геноме уникальное случайно выбранное сочетание единственных V, (D), и J генных сегментов, совместно кодирующих вариабельный участок их АТ-рецепторов (В-клеточный рецептор).

В ходе дальнейшей рекомбинации объединяется новообразованный V(D)J экзон и сегмент гена, кодирующий константную часть молекулы ИГ (исходно μ -, а позднее – δ -цепь). Это приводит к дополнительным мутациям в местах соединения, что увеличивает разнообразие АТ.

С началом транскрипции генов легких и тяжелых цепей образуются первичные транскрипты РНК. Они подвергаются *сплайсингу* с удалением интронов и образованием конечных мРНК. Как результат *альтернативного сплайсинга* РНК, на мембранах В-лимфоцитов на определенной стадии одновременно появляются АТ-рецепторы классов IgM и IgD.

Реаранжировка генов АТ выполняется комплексом ферментов-рекомбиназ **Rag-1/Rag-2**. Данные ферменты специфичны для лимфоидных клеток и активны только в созревающих В-лимфоцитах.

Дальнейшее расширение репертуара АТ происходит в ходе антигензависимой дифференцировки при стимуляции В-лимфоцитов антигеном. Ведущую роль здесь играют АГ-специфические Т-хелперы – клетки **T_H2** и **T_{FH}**.

Т-хелперы активируют **переключение изотипа** молекул АТ в В-лимфоцитах. Данный процесс приводит к *изменению класса* синтезируемых ИГ той же специфичности – от начальных IgM к последующим IgG, IgA или IgE. Это происходит под влиянием цитокинов, секретируемых Т-хелперными клетками (ИЛ-4, TGF- β и других).

Генетический *механизм*, обеспечивающий переключение изотипа, также *основан на рекомбинации* генных сегментов АТ. При этом уже сформированный ген VDJ (вариабельный участок) соединяется с новым генным сегментом, кодирующим другую константную часть молекулы ИГ (α -, γ -, или же ϵ -цепь вместо

первичной μ - или δ -тяжелой цепи, рис. 3.2.). Такая перестройка приводит к новым мутациям по местам соединения генов, что ведет к дальнейшему увеличению разнообразия АТ.

Завершающим механизмом, который максимально расширяет итоговый репертуар специфичностей АТ, является **соматический гипермутагенез**. Он развивается в процессе *антигензависимой дифференцировки* В-лимфоцитов и плазмочитов и затрагивает гены, кодирующие переменные участки антител. При этом общий уровень соматических мутаций внутри генов активных центров АТ возрастает более чем в 1000 раз по сравнению с их фоновой частотой.

Генетические механизмы, приводящие к соматическим гипермутациям, до конца не выяснены. Например, установлено действие **фермента деаминазы**, который в генах антител преобразует цитозин (С) в урацил (U). Последующий процесс репарации ДНК удаляет остатки урацила и заменяет их другими нуклеотидами.

Соматический гипермутагенез обеспечивает также **аффинное созревание** антигенспецифических В-клеток. Тем самым в процессе иммунного ответа происходит **увеличение аффинности антител** к антигену. В заключительной фазе иммунного ответа сохраняются только те клоны В-клеток, которые экспрессируют антитела с наибольшим сродством. Часть из них трансформируется в долгоживущие клетки памяти. Остальные АГ-специфические В-лимфоциты удаляются посредством апоптоза.

Генетические механизмы, участвующие в создании иммунного **репертуара Т-лимфоцитов**, несущих антигенспецифические рецепторы (ТКР), устроены принципиально так же, как и для В-клеток и АТ.

Гены (генные сегменты), кодирующие альфа и дельта-цепи ТКР человека, располагаются в 14 хромосоме; кодирующие бета- и гамма-цепи – в пределах 7 хромосомы.

Сходно с антителами, переменные участки бета-цепи ТКР кодируются посредством 3 видов генных сегментов – **V, D и J**.

Переменные части альфа-цепи ТКР кодируются двумя генными сегментами – **V и J**.

Также в 7-й и 14-й хромосомах содержатся генные сегменты, кодирующие константные участки ТКР человека.

В зародышевой конфигурации генома бета-цепи ТКР имеют около 50 вариантов V генных сегментов, 2 различных сегмента D и 12 сегментов J.

Аналогичным образом, локус альфа-цепи ТКР включает около 45 V генных сегментов и 55 версий сегментов J.

В тимусе клоны незрелых Т-клеток (тимоциты) проходят антигеннезависимую дифференцировку и созревание. Этот процесс сопровождается *реаранжировкой генов Т-клеточного рецептора* со случайной рекомбинацией и соединением генных сегментов, кодирующих переменные и константные участки ТКР.

Таким образом, каждый клон Т-лимфоцитов образует собственный вариант ТКР с уникальной специфичностью. Тем самым формируется обширный иммунологический репертуар антиген-специфических Т-лимфоцитов.

В отличие от В-клеток, у Т-лимфоцитов отсутствуют механизмы аффинного созревания и переключения изотипа.

ГЛАВА 4.

КЛЕТОЧНЫЙ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ. TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРЫ. ФАГОЦИТЫ И ФАГОЦИТОЗ. ЕСТЕСТВЕННЫЕ КИЛЛЕРНЫЕ КЛЕТКИ. НКТ-КЛЕТКИ ВРОЖДЕННЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

Клеточные и гуморальные факторы врожденного иммунитета составляют первую линию защиты макроорганизма от патогенов.

Toll-like рецепторы и сходные с ними молекулы

В настоящее время доказано, что иммунный ответ на инфекционные агенты (бактерии, вирусы) во многом зависит от взаимодействия клеток иммунной системы с *типовыми структурными компонентами* (или *образами*) микроорганизмов.

По своему молекулярному строению эти компоненты являются сходными у больших групп как патогенных, так и непатогенных микробов. Они получили название «*молекулярные образы патогенов*» (МОП или англ. *PAMP* – *pathogen-associated molecular patterns*).

В свою очередь, система иммунитета распознает эти образы при помощи нескольких групп специализированных рецепторов. Данные рецепторы являются филогенетически древними, их структура является сходной у организмов различных видов, находящихся на разных этапах эволюционного развития.

Они получили общее название «*образ-распознающих рецепторов – ОРР*» (англ. – *pattern-recognizing receptors, PRR*).

Впервые подобные рецепторы были обнаружены при изучении развития организма мушки дрозофилы. Они были названы *Toll-рецепторами*. У дрозофилы Toll-рецепторы отвечают за дифференцировку тканей и органов. Кроме того, оказалось, что они принимают участие в защите от инфекций (например, грибковых).

Далее было показано, что сходные рецепторы имеются у высших организмов, в том числе у человека. По аналогии они получили название *Toll-подобных рецепторов – Toll-like receptors, TLR*.

Сравнительно недавно были обнаружены и другие группы рецепторов, участвующие в распознавании образов патогенов

Toll-like рецепторы (TLR), их функции

У человека в настоящее время описано более 10 различных TLR. Они экспрессированы на многих клетках врожденного иммунитета. Наиболее важную роль они выполняют в системе *антигенпредставляющих клеток (АПК)* и фагоцитов – в *дендритных клетках, макрофагах*, клетках Лангерганса и т.д.

TLR-1 связывает липопептиды различных групп бактерий.

TLR-2 взаимодействует со многими структурными образами патогенных микробов – *липотейхоевыми кислотами* большинства грамположительных бактерий, *липопротеинами* боррелий и трепонем (включая возбудителя сифилиса), *липопротеинами* микобактерий туберкулеза, *компонентами клеточных стенок* нейссерий, листерий, грибов.

TLR-3 связывается с *двухцепочечной РНК*, характерной для вирусов; тем самым он поддерживает эффективный противовирусный иммунитет.

TLR-4 реагирует с *ЛПС грамотрицательных бактерий* (например, с энтеробактериями), а также с *белками теплового шока*.

TLR-5 взаимодействует с бактериальным *флагеллином (Н-антигеном бактерий)*.

TLR-6 также связывается с *липопептидами* различных групп патогенов (например, с микоплазмами).

TLR-7 блокирует *одноцепочечную РНК* вирусов.

TLR-8 взаимодействует с *одноцепочечной РНК* вирусов и бактерий.

TLR-9 связывается с бактериальными и вирусными *ДНК*.

TLR-13 взаимодействует с последовательностью *бактериальной рибосомальной РНК*.

К настоящему времени у человека также идентифицированы другие семейства образ-распознающих рецепторов. Например, к ним относятся молекулы *NOD* и *RP*. Они связывают микробные структуры внутриклеточно после их внедрения и деструкции в клетке.

Все *Toll-like рецепторы* играют важнейшую роль в естественном антимикробном иммунитете.

Основной функцией *системы TLR* является активация клеток иммунной системы после контакта с патогенным биологическим агентом. В частности, связывание структурных образов микробов Toll-подобными рецепторами на *антигенпредставляющих дендритных клетках* ведет к резкому усилению экспрессии *костимуляторных молекул*. Появление костимуляторных молекул обеспечивает активацию антигенспецифических Т лимфоцитов и их дальнейшую пролиферацию и дифференцировку. Без костимуляции Т клетки, наоборот, переходят в состояние *неотвечаемости (анергии)* к данному антигену.

Кроме того, взаимодействие образов патогенов с различными TLR ведет к *перенаправлению иммунного ответа* либо по клеточному, либо по гуморальному пути. Это связано с тем, что активация АПК через разные TLR ведет к продукции комплекса цитокинов, обладающих противоположным действием.

В свою очередь, разный цитокиновый профиль стимулирует превращение T_H0 либо в T_H1 , либо в T_H2 . Активация T_H1 приводит к развитию клеточного воспаления, T_H2 направляют иммунный ответ по гуморальному пути, обеспечивая синтез антител.

В частности, активация иммунного ответа через *TLR-2* приводит к увеличению синтеза *ИЛ-4* и *ИЛ-10* с одновременным подавлением синтеза гамма-интерферона. Это способствует активации T_H2 и последующей продукции антител с одновременным торможением клеточного воспаления.

Наоборот, активация посредством *TLR-4* ведет к образованию T_H1 и продукции *провоспалительных цитокинов* (ИЛ-1, 2, 12, всех типов интерферонов, ФНО-альфа).

Молекулы *TLR*, присутствующие на *макрофагах*, непосредственно *связывают микробные структуры*, активируя *фагоцитоз*.

Помимо удаления микробных компонентов, образ-распознающие рецепторы *TLR* и других семейств эффективно *связывают продукты неинфекционного воспаления и клеточного распада* собственных тканей. Такие продукты называют *молекулярными образами повреждения* (англ. DAMP – *damage-associated molecular patterns*) или молекулами-*аларминами* (от англ. *alarm* – тревога). Высвобождение аларминов свидетельствует о клеточном повреждении. Аларминами являются многие внутриклеточные

молекулы и компоненты межклеточного матрикса (нуклеиновые кислоты и нуклеотиды, гиалуроновая кислота и фрагменты протеогликанов, лейкоцитарные дефензины и мн. другие структуры).

Сигналы от аларминов к Toll-like рецепторам стимулируют клетки врожденного иммунитета и *активируют воспаление*.

Иногда молекулярные образы, ассоциированные как с микробными патогенами, так и с клеточными структурами повреждения, объединяют в общую группу «*молекул опасности*». Сигналы от них сходным образом активируют реакции врожденного иммунитета с развитием воспаления.

Система антигенпредставляющих клеток (АПК). Дендритные клетки

Антигенпредставляющие клетки (АПК) – это гетерогенная популяция лейкоцитов с весьма выраженной иммуностимулирующей активностью. Большая часть АПК обеспечивает активацию Т-хелперов, некоторые из них взаимодействуют с другими клетками иммунной системы.

Главную роль в системе АПК играют дендритные клетки (*ДК*). Они возникают из костномозговых миелоидных и моноцитарных предшественников под влиянием ГМ-КСФ, ФНО, ИЛ-3 и других.

АПК-ДК локализованы преимущественно в коже, лимфатических узлах, селезенке, эпителиальном и субэпителиальном слоях большинства слизистых оболочек и в тимусе. Относящиеся к ним *клетки Лангерганса* из кожи и других эпителиальных тканей мигрируют по афферентным лимфатическим сосудам в паракортикальные области регионарных лимфоузлов. Там они взаимодействуют с *Т-хелперами*, представляя для них антиген (*интердигитирующие* ДК). Наличие высокой плотности молекул HLA II класса на мембранах дендритных клеток способствует процессу презентации. Миграция ДК в лимфоузлы обеспечивает эффективный механизм доставки антигенов из кожи и слизистых оболочек к Тх-клеткам лимфоузлов.

Основные *свойства* дендритных клеток следующие:

– связывание, переработка и презентация белковых, а также липо- или гликопротеиновых антигенов;

- секреция и выделение цитокинов, хемокинов, привлекающих и активирующих другие лейкоциты;
- индукция аутоотолерантности Т-лимфоцитов в тимусе и периферических органах;
- участие в развитии аллергических и аутоиммунных реакций;
- участие в противоопухолевом иммунитете;
- удаление апоптозных клеток.

Фолликулярные дендритные клетки (ФДК) содержатся в фолликулах В-клеточных зон в периферических лимфоидных органах (лимфоузлах, селезенке, лимфоидной ткани слизистых). Они представляют **неизменные** (нативные) антигены *В-лимфоцитам*.

Кроме того, эффективными АПК могут служить сами *В-лимфоциты*. Они представляют различные антигены *фолликулярным Т-хелперным клеткам* и *T_H2*.

Фагоциты и фагоцитоз. Система мононуклеарных фагоцитов

Фагоцитоз является одной из наиболее филогенетически древних форм врожденного иммунитета. Эта защитная реакция включает **захват** и **переваривание** *корпускулярных чужеродных тел* (например, бактерий или остатков распавшихся клеток) с помощью специализированных клеток-фагоцитов.

Выдающийся русский исследователь И.И. Мечников в 1882 г. впервые обнаружил, что амебоидные клетки мезодермы морских звезд поглощали и переваривали различные инородные частицы. Данное явление он назвал фагоцитозом. Исходя из морфологических свойств, И.И. Мечников подразделил клетки, способные к фагоцитозу, на *микрофаги* и *макрофаги*.

К *микрофагам* относятся *зернистые лейкоциты* – **гранулоциты**: *нейтрофилы*, *эозинофилы* и *базофилы*.

Основными фагоцитирующими клетками являются **нейтрофилы**. Эозинофилы и базофилы характеризуются сравнительно слабой фагоцитарной активностью.

Клетки макрофагального ряда объединяются в **мононуклеарную систему фагоцитов**.

Эта система включает мобильные клетки – **моноциты крови**, фагоциты лимфатических узлов и селезенки, гистиоциты соединительной ткани, а также *резидентные макрофаги* –

купферовские клетки печени – звездчатые эндотелиоциты, альвеолярные макрофаги, мезангиальные макрофаги, макрофаги соединительной ткани, астроциты глии, остеокласты, эндотелиоциты сосудов, резидентные макрофаги лимфатических узлов и селезенки.

Миелоидные предшественники моноцитов под влиянием колониестимулирующих факторов дифференцируются в костном мозге в *промоноциты*, а затем в зрелые *моноциты*, которые поступают в кровотоки. Далее они мигрируют по капиллярной сети в органы и ткани, где превращаются в резидентные *макрофаги*.

Моноциты/макрофаги экспрессируют разнообразные рецепторы и молекулярные маркеры. К ним относятся рецепторы для компонентов бактерий, в том числе – молекулы семейства TLR. Среди них – ***TLR4*** в комплексе с мембранным ***CD14***-рецептором, который взаимодействует с *ЛПС-связывающим белком*, а тот, в свою очередь – с *ЛПС* грамотрицательных бактерий. Также имеются рецепторы для Fc-фрагмента IgG – CD16, CD32 и CD64 и рецепторы к компонентам комплемента (например, к C3b – CD35), главная функция которых – ***опсонизация***. Помимо всех упомянутых молекулярных маркеров, моноциты и макрофаги имеют многочисленные рецепторы к цитокинам, а также интегрины CD11/CD18.

Основные функции макрофагов :

- ***фагоцитоз***;
- ***распознавание***, переработка (***процессинг***) и представление (***презентация***) антигенов;
- ***продукция цитокинов***.

Фагоцитоз

Процесс фагоцитоза состоит из 5 основных этапов.

Стадия хемотаксиса представляет собой *целенаправленное движение макрофагов к объекту фагоцитоза* (например, к микробной клетке). Движение фагоцита происходит по градиенту концентрации ***хемотаксических факторов***. Они образуются как самой бактериальной клеткой (ЛПС и другие микробные компоненты), так и всеми лейкоцитами и прочими клетками. В организме их возникает огромное множество – анафилатоксины, цитокины и медиаторы воспаления, продукты распада клеток и т.д.

Только к белкам семейства **хемокинов** относится более 100 различных молекул. Среди них выделяется **ИЛ-8** – мощный хемоаттрактант для нейтрофилов и других лейкоцитов. Сигналы от хемокинов активируют перестройку цитоскелета фагоцитов, которые развивают амeboидное движение по направлению к объектам фагоцитоза в очаг инфекции и воспаления.

Дефицит хемотаксиса может быть причиной повышенной чувствительности ко многим инфекциям; эти дефекты бывают наследственными или приобретенными.

Стадия адгезии реализуется 2 механизмами: *неиммунным* и *иммунным*.

Неиммунный фагоцитоз осуществляется за счет адсорбции антигена на поверхности макрофага при помощи различных рецепторных молекул. Существенную роль здесь играют антимикробные *образ-распознающие рецепторы*, такие как **TLR**. Другим важным механизмом является взаимодействие белков-*лектинов*, направленных к углеводным структурам бактерий.

Неиммунный фагоцитоз активен с самого начала инфекционного процесса еще до появления специфических АТ

В *иммунном фагоцитозе* участвуют **Fc-рецепторы** макрофагов к *иммуноглобулинам* и *рецепторы* к компонентам *комплемента* (**C3b**, **C5a** и другим). В одних случаях макрофаг несет на своей поверхности антитела, за счет которых прикрепляется к клетке-мишени. В других – с помощью Fc-рецептора он сорбирует уже образовавшийся иммунный комплекс на поверхности бактерии. Антитела и факторы комплемента, усиливающие фагоцитоз, называют **опсонинами**, а сам процесс – **опсонизацией**.

В **стадию эндоцитоза** (или **поглощения**) происходит сокращение актина цитоскелета, инвагинация мембраны фагоцита, обволакивание и захват объекта фагоцитоза псевдоподиями с образованием **эндосомы (фагосомы)**. В течение минут фагосома сливается с лизосомами и образуется **фаголизосома**. При этом содержимое лизосомальных гранул смешивается с поглощенными микроорганизмами.

В **стадии переваривания** происходит **активация** многочисленных **ферментов**, разрушающих объект фагоцитоза.

Фагоцитарные клетки обладают разнообразными механизмами уничтожения микробов.

Главный из них – продукция **активных форм кислорода (АФК)** через активацию *гексозомонофосфатного шунта*. Этот механизм получил название **дыхательный взрыв**.

Ключевым ферментом процесса является фагоцитарная ***NADPH-оксидаза***. Происходит восстановление молекулярного кислорода с образованием **супероксидного** анион-радикала (O_2^-), из которого образуются высокоактивные **гидроксильные радикалы ($\bullet OH$)**, **синглетный молекулярный кислород** и H_2O_2 .

Дополнительно в нейтрофилах под действием **миелопероксидазы** и каталазы из перекисей в присутствии галоидов образуются и другие токсичные оксиданты – **галогенопроизводные**, например гипойодид и **гипохлорит** (производные HOI и $HOCl$).

Все эти реагенты обладают максимальной бактерицидной активностью. Гидроксильный радикал известен как наиболее реакционноспособное соединение. Сочетание перекиси и галоидных ионов разрушает как бактерии, так и вирусы. Кроме того, пероксид водорода и галогенопроизводные являются более стабильными, чем свободные радикалы. Они диффундируют через мембрану и способны поражать возбудителей вне клетки.

Дополнительный бактерицидный механизм основан на образовании токсичного для бактерий и опухолевых клеток **оксида азота *NO***. Оксид азота *NO* и **пероксинитрит** инактивируют микробные ферменты переноса электронов, а также стимулируют выделение ($\bullet OH$)-радикалов.

Образование реактивных форм азота называют **нитрозативным** (или нитрозилирующим) **стрессом**. Он играет важную роль в удалении ряда устойчивых микроорганизмов (например, микобактерий туберкулеза).

Кроме того, в фаголизосомах имеются **катионные белки**, обладающие антимикробным действием. Важную роль здесь играют **дефензины** – богатые остатками цистеина и аргинина катионные пептиды. Они вызывают образование каналов в мембране микробной клетки. Дефензины активны против широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и ряда оболочечных вирусов.

Дальнейшее повреждение бактериальных структур обусловлено действием эндосомных **гидролитических ферментов**, среди них нейтральные протеиназы (например, **катепсин G** и **эластаза** нейтрофилов), гиалуронидаза, нуклеазы, **лизоцим**.

Лизоцим (мурамидаза) разрушает бактериальный пептидогликан.

Лизоцим и антимикробный белок *лактоферрин* независимы от кислорода; они могут функционировать и в анаэробных условиях. *Лактоферрин* связывает катионы железа и делает его недоступным для бактерий.

Низкое значение pH в пределах фаголизосомы облегчает деградацию микроорганизмов.

Различают *завершенный* и *незавершенный фагоцитоз*. При *завершенном фагоцитозе* происходит полное переваривание и *бактериальная клетка погибает*. При *незавершенном фагоцитозе* *микробные клетки остаются жизнеспособными*. Это обеспечивается различными механизмами. Так, микобактерии туберкулеза и токсоплазмы препятствуют слиянию фагосом с лизосомами; гонококки, стафилококки и стрептококки могут быть устойчивыми к действию лизосомальных ферментов, риккетсии и хламидии могут долго персистировать в цитоплазме вне фаголизосомы.

Последней стадией фагоцитоза является *удаление непереваренных фрагментов* бактерий и прочих объектов фагоцитоза.

Процессинг и презентация (представление) пептидных антигенов

Макрофаги проявляют умеренную активность в представлении антигенов Т-лимфоцитам.

В результате фагоцитоза образуется большое количество небольших антигенных пептидов. Их переваривание (*процессинг*) происходит в *эндосомах* (для *экзоантигенов*) или внутри цитоплазматического *комплекса протеаз*, известного как *протеасома* (для *эндоантигенов*). Далее пептиды соединяются с молекулами гистосовместимости комплекса HLA и переносятся на клеточную мембрану (*презентация АГ*).

Обычно макрофаги представляют *экзоАГ* – пептиды длиной 12-25 аминокислот. Они связываются с молекулами *HLA II класса* (HLA-DP, -DQ, -DR). На мембранах макрофагов комплексы *экзоАГ-HLA-II* представляются *Т-хелперам* (1-й сигнал активации Т-хелперов).

Если перевариванию подвергался вирусный или аутобелок организма (*эндоАГ*), то его пептид длиной 8-12 аминокислотных остатков связывается с молекулами *HLA I класса* (HLA-A, HLA-B,

HLA-C). Затем этот комплекс представляется антигенспецифическим **цитотоксическим Т-лимфоцитам**.

Секреция цитокинов макрофагами

Макрофаги могут быть активированы самыми разными стимулами, в том числе компонентами микроорганизмов, иммунными комплексами, цитокинами, продуктами распада клеток (аларминами) и мн.др. Активированные макрофаги секретируют многочисленные цитокины. Ведущими цитокинами макрофагов являются ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО, простагландины, лейкотриены, различные хемокины.

Основные **провоспалительные цитокины** ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО имеют широкий спектр биологической активности. В ходе иммунного ответа они участвуют в активации лимфоидных клеток (преимущественно ***Tx1*** и Т-киллеров). В высоких концентрациях вызывают системные реакции с лихорадкой и ознобом. Гиперпродукция данных цитокинов, особенно при тяжелых бактериальных инфекциях, может привести к эндотоксическому шоку с лихорадкой, коллапсом и полиорганной недостаточностью.

Макрофаги-стимуляторы воспалительных реакций определяются как **классически активированные макрофаги**. Они известны как ***M1-субпопуляция*** макрофагов. Помимо высокой микробицидной активности, в ряде случаев они могут вызвать аутоиммунные расстройства (например, при ревматоидном артрите или рассеянном склерозе).

Альтернативно активированные макрофаги (или ***M2-субпопуляция***) стимулируются **противовоспалительными цитокинами** ИЛ-4, ИЛ-10, и ТФР-бета. Клетки M2 продуцируют низкие концентрации ИЛ-12, но высокие – ***ИЛ-10*** и ***ТФР-бета***. Тем самым они поддерживают противовоспалительное состояние при завершении патологического процесса.

Альтернативная активация часто наблюдается при микозах, протозойных заболеваниях, глистных инвазиях, аллергии и онкопатологии. Иногда это препятствует эффективному иммунному ответу.

Предполагается наличие и других субпопуляций макрофагов. Они могут трансформироваться друг в друга в зависимости от внешних сигналов и профиля выделяемых цитокинов.

Система гранулоцитов: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы

Гранулоциты развиваются из гемопоэтических стволовых клеток под влиянием комплекса цитокинов, в первую очередь – **колониестимулирующих факторов (ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор)**.

Все гранулоциты (или **зернистые лейкоциты**) содержат цитоплазматические гранулы с ферментами и медиаторами.

В периферической крови сегментоядерные нейтрофилы составляют 47-72% от общего количества лейкоцитов, палочкоядерные нейтрофилы – 1-6%, базофилы – 0-1%, эозинофилы – 1-5%.

Основной функцией **нейтрофилов** является **фагоцитоз** (клетки-микрофаги), **базофилы** участвуют в **аллергических реакциях немедленного типа**, **эозинофилы** – в **аллергии и противо-паразитарном** иммунитете.

Нейтрофильные лейкоциты

Нейтрофильные гранулоциты – наиболее активно фагоцитирующие клетки **врожденного иммунитета**.

Это короткоживущие лейкоциты – средняя продолжительность жизни нейтрофила составляет около 7 часов.

Маркерами нейтрофилов являются мембранные молекулы и рецепторы CD16 (FcγRIII), CD32 (FcγRII), CD64 (FcγRI), рецепторы к компонентам комплемента C3b, C5a, C1q, большое количество молекул адгезии из различных семейств (селектины, интегрины и многие другие).

В цитоплазме нейтрофилы имеют гранулы различных типов – **первичные азурофильные, вторичные «специфические» и третичные**.

Первичные гранулы содержат множество ферментов. Важнейший фермент первичных гранул **миелопероксидаза** является специфическим для нейтрофилов. Кроме того, первичные гранулы включают нейтрофильную **эластазу**, катепсины, нейтральные и кислые протеазы, глюкуронидазу и другие ферменты, а также антимикробные белки **дефензины**.

Вторичные гранулы накапливают **лактоферрин**, лизоцим, коллагеназу (желатиназу), металлопротеиназы и субъединицы **NADPH-оксидазы** – фермента, запускающего **дыхательный взрыв**.

Третичные гранулы преимущественно содержат **желатиназу**.

Нейтрофилы быстро реагируют на экзо- и эндогенные стимулы, двигаясь напрямую к очагу воспаления. Наиболее эффективными факторами хемотаксиса для нейтрофилов являются **ИЛ-8**, анафилотоксины C3a и C5a, компоненты пептидогликана бактерий.

Главная **функция нейтрофилов** – это **фагоцитоз**, играющий ведущую роль в антибактериальном иммунитете. После захвата микроорганизмов NADPH-оксидаза активирует **дыхательный взрыв** с образованием активных форм кислорода (**АФК**) с мощным бактерицидным действием.

Нейтрофильная миелопероксидаза дополнительно усиливает разрушение микробов, образуя **гипохлорит** (HOCl) из перекиси водорода.

Процесс фагоцитоза сопровождается интенсивной продукцией провоспалительных цитокинов.

После успешной ликвидации патогенных бактерий активированные нейтрофилы обычно подвергаются **апоптозу** с целью ограничения воспалительных реакций. В случае высокоагрессивных патогенов, разрушающих нейтрофил, они могут погибать путем **некроза**.

В ситуациях, когда нейтрофилы не справляются с объектами фагоцитоза, они активируют дополнительные бактерицидные механизмы. Один из них известен как **образование НВЛ – нейтрофильных внеклеточных ловушек** (англ. *neutrophil extracellular traps* или **NETs**). Процесс формирования таких ловушек получил название «**нетоз**» (англ. *netosis*). Нетоз наблюдается при захвате фагоцитом большого числа патогенов, особенно крупноразмерных (грибы, простейшие). Он запускается компонентами бактериальных клеток, а также немикробными сигналами (провоспалительными цитокинами, аларминами и т.д.).

Образование НВЛ («нетоз») включает контролируемое высвобождение через мембрану лейкоцитов смеси ядерной **ДНК** нейтрофилов и **бактерицидных ферментов** гранул. Нейтрофил при этом обычно погибает.

Нетоз создает пространственные **сетчатые структуры** из ДНК, наполненные бактерицидными молекулами из гранул. Они охватывают значительные области в окружающих тканях. В

результате возбудители захватываются сетью ДНК и претерпевают постепенную деградацию под влиянием ферментов нейтрофилов. Таким образом НВЛ блокируют дальнейшее распространение патогенов и вызывают их гибель.

В реакциях врожденного иммунитета нетоз показывает эффективность, сравнимую со стандартным фагоцитозом.

Избыточная продукция НВЛ может приводить к воспалительному повреждению тканей, что наблюдается при тяжелых инфекциях и аутоиммунных заболеваниях.

Базофильные лейкоциты

Базофилы имеют в цитоплазме крупные гранулы, которые окрашиваются по методу Романовского-Гимзы в сине-фиолетовый цвет. Тучные клетки являются тканевыми аналогами базофилов. Все эти клетки являются основными участниками *аллергических реакций немедленного типа*. На их мембранах экспрессируются высокоаффинные Fcε-рецепторы, связывающие IgE.

Гранулы базофилов содержат гистамин, серотонин, лейкотриены, простагландины, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), гепарин, различные хемоаттрактанты, и многие другие сильнодействующие медиаторы аллергии. Они высвобождаются из активированных базофилов после их дегрануляции. Дегрануляция базофилов активируется сигналом с мембранного Fcε-рецептора базофилов, который связывает Fc-фрагмент аллерген-специфического IgE.

Медиаторы базофилов оказывают существенное влияние на эндотелий сосудов и гладкомышечную ткань. Тем самым они увеличивают сосудистую проницаемость, воздействуют на системный кровоток и микроциркуляцию в тканях, усиливают воспалительную реакцию.

Эозинофильные лейкоциты

Эозинофилы принимают самое активное участие в *аллергических реакциях* и в *антипаразитарном иммунитете*. Их созревание и жизненный цикл во многом контролируются цитокинами ИЛ-3 и **ИЛ-5**. При аллергии ИЛ-5 стимулирует движение

эозинофилов в места скопления тучных клеток, способствуя эозинофильной инфильтрации тканей.

Гранулы эозинофилов содержат различные аллергические медиаторы и цитотоксические белки, в первую очередь – **основной белок эозинофилов**. Он вызывает повреждение клеток простейших и гельминтов, однако может спровоцировать гиперчувствительность дыхательных путей и повлиять на сосудистый тонус. В ходе иммунного ответа эозинофилы проявляют высокую цитотоксическую активность, которая может повреждать ткани.

Эозинофилы имеют множество поверхностных мембранных рецепторов, например, для C3b и C4 компонентов комплемента, Fc-рецепторы к IgG и IgE и мн.др.

Естественные киллерные клетки (ЕК-клетки)

Это довольно малочисленная популяция лимфоцитов (в пределах 5-15% от общего количества лимфоцитов крови). В отличие от Т-лимфоцитов, они не имеют антигенспецифического рецептора на своей мембране. Для уничтожения чужеродных агентов ЕК-клетки активируют собственные механизмы иммунной защиты.

ЕКК содержат большое количество азурофильных гранул в цитоплазме. Из-за наличия гранул и сравнительно крупных размеров ЕК-клетки также получили наименование «*большие гранулярные лимфоциты*».

Естественные киллеры играют важнейшую роль в реакциях **врожденного иммунитета**. Они вызывают гибель *раковых клеток* или *клеток, инфицированных вирусами*, независимо от их антигенной специфичности (так называемый «*неиммунной цитолиз*»). Кроме того, естественные киллеры могут уничтожать ряд бактерий и простейших.

ЕКК секретируют широкий спектр цитотоксических молекул – порообразующий белок **перфорин**, напоминающий по своему действию мембраноатакующий комплекс системы комплемента, **лимфотоксин** (ранее известный как β -ФНО), комплекс цитолитических ферментов, таких как **гранзимы**, которые активируют **апоптоз** клеток-мишеней. Кроме того, они индуцируют **апоптоз** клеток *при непосредственном контакте* через взаимодействие их Fas-лиганда с рецепторами апоптоза Fas/Аро **CD95** на клетках-мишенях.

Также ЕКК выделяют *гамма-интерферон*, стимулируя макрофаги и дендритные клетки.

Маркерами ЕК-клеток являются **CD16** и **CD56**.

Инфицированные клетки и клетки после опухолевой трансформации становятся чувствительными к естественным киллерам после изменений молекул HLA I класса на их мембранах. В норме ЕКК постоянно экспрессируют *киллинг-ингибирующие рецепторы* (например, **CD158**), которые, взаимодействуя с HLA I класса нормальных клеток, постоянно подавляют активацию естественных киллеров. При опухолевой трансформации или вирусной инфекции конформация HLA-I молекул на клетках меняется, в том числе за счет связывания и презентации чужеродного АГ. Это вызывает активацию ЕКК с последующей гибелью пораженной клетки.

Кроме того, установлено, что ЕКК имеют и другие типы рецепторов (*киллинг-активирующие рецепторы*), стимуляция которых ведет к усилению киллерной активности.

Естественные киллеры восполняют недостающие звенья в иммунной защите макроорганизма. В то время как Т-цитотоксические лимфоциты атакуют инфицированные клетки после специфического распознавания их антигенных пептидов в комплексе с HLA I класса, ЕК-клетки уничтожают клетки-мишени, лишенные маркеров «своего».

НКТ клетки

Еще одна минорная субпопуляция лимфоидных клеток имеет мембранные маркеры, характерные для как для Т-клеток, так и для естественных киллеров. Такие лимфоциты получили название НКТ-клеток (от англ. *natural killer T cells*). Они несут на своей поверхности антигенспецифический Т-клеточный рецептор (*$\alpha\beta$ ТКР*) и маркер **CD56**.

Основная функция НКТ-лимфоцитов – распознавать и связывать эндогенные и экзогенные *липидные антигены* (например, липопротеины микробных клеток). Эти антигены представляются НКТ-клеткам в комплексе с молекулой **CD1**. Было обнаружено, что молекула CD1 имеет схожую структуру с антигенами HLA I класса и способна связываться с липидами.

Тем самым НКТ-лимфоциты играют существенную роль в реакциях **врожденного иммунитета**. Они участвуют в антимикробной защите, связываясь с липидными компонентами бактериальных клеток. В частности, они поддерживают на необходимом уровне иммунитет против микобактерий туберкулеза.

Наряду с Т-клетками и естественными киллерами, НКТ-лимфоциты также проявляют выраженную цитотоксическую активность.

Врожденные лимфоидные клетки

В реакциях врожденного иммунитета принимают участие и другие специализированные группы лимфоидных клеток с различной функциональной активностью. Представители данных групп получили общее название **врожденных лимфоидных клеток (ВЛК)**. На их мембранах отсутствуют антигенспецифические рецепторы (ТКР или ВКР), однако они синтезируют обширный спектр цитокинов, регулирующих клеточный и гуморальный иммунитет, развитие и дифференцировку лимфоидной ткани.

ВЛК обеспечивают **ранний синтез цитокинов** в ответ на структурные компоненты микробов и продукты повреждения тканей (молекулярные «образы патогенов» и «образы повреждения»).

В норме подавляющее большинство ВЛК находится в слизистых оболочках, коже, во внутренних органах и лимфатической системе, где они выполняют свои регуляторные функции. При возникновении патологического процесса количество ВЛК в крови нарастает, а продукция ими цитокинов усиливается. Тем самым ВЛК оказывают свое влияние и на реакции антигенспецифического приобретенного иммунитета.

Различают 3 основных группы врожденных лимфоидных клеток – *ВЛК-1*, *ВЛК-2* и *ВЛК-3*, соответственно.

К **ВЛК-1** относятся лимфоидные клетки, которые после активации ИЛ-12 и ИЛ-18 образуют **гамма-интерферон** – мощный провоспалительный цитокин. Вследствие этого усиливаются реакции **клеточного иммунитета** – происходит стимуляция макрофагов, дендритных клеток, цитотоксических (CD8+) Т-лимфоцитов; в итоге развивается воспаление.

По результатам своего действия ВЛК-1 сходны с *Т-хелперами 1 типа*, однако их активация не требует взаимодействия с

антигеном. Предполагается, что ВЛК-1 способствуют удалению *внутриклеточных микроорганизмов*.

Ряд исследователей относит к ВЛК-1 естественные киллерные клетки (**ЕКК**), которые также продуцируют гамма-интерферон.

В группу **ВЛК-2** входят лимфоидные клетки, выделяющие **ИЛ-5**, ИЛ-9 и **ИЛ-13**. Они ускоряют созревание В-лимфоцитов, стимулируют эозинофилы. В этом отношении их действие сходно с активностью *Т-хелперов 2 типа*, поддерживающих гуморальный иммунитет с образованием АТ.

Показано, что ВЛК-2 усиливают иммунные реакции в отношении гельминтов и простейших (**противопаразитарный иммунитет**). Также они способствуют развитию **аллергических реакций** и тем самым участвуют в патогенезе ряда заболеваний (бронхиальной астмы, респираторных вирусных инфекций и др.).

Ни более гетерогенной является группа **ВЛК-3**. Данные клетки продуцируют **ИЛ-17** и **ИЛ-22**, что сближает их по активности с *Т-хелперами 17*.

ВЛК-3 участвуют в иммунных реакциях против *внеклеточных бактерий и грибов*. Кроме того, они поддерживают барьерную функцию слизистых (кишечник, легкие), регулируя активность эпителиальных клеток. Доказана их способность стимулировать *развитие лимфоидной ткани*.

Гуморальные факторы врожденного иммунитета.

Система комплемента

Помимо разнообразных клеточных элементов в поддержании врожденного иммунитета активно участвуют гуморальные факторы. В естественном иммунитете против микроорганизмов заметную роль играют белки острой (ранней) фазы воспаления: *С-реактивный белок (СРБ), фибронектин, сывороточный амилоид, альфа₂-макроглобулин, фибриноген, фермент лизоцим* и многие другие.

Одной из важнейших систем, обеспечивающих врожденный иммунитет, является **система комплемента**.

Система комплемента

Комплементом называют сложную систему ферментативных и рецепторных белков сыворотки крови (всего – более 30).

Термин «комплемент» обозначает способность этих белков дополнять (усиливать) действие других факторов иммунитета в иммунном ответе (антител, фагоцитов и т.д.).

Основные **компоненты** системы комплемента обозначаются буквой **С** с соответствующим номером (от С1, до С9). Они образуются в печени и секретируются макрофагами.

Белки системы комплемента весьма чувствительны к нагреванию (термолабильны). Они инактивируются при 56°C в течение 30 мин, а также при длительном хранении, под воздействием УФ-излучения и различных химических веществ,

Активация системы комплемента протекает **классическим**, очень сходным с ним **лектиновым**, а также **альтернативным путями**. Процесс имеет вид *цепной реакции*, управляемой регуляторными белками. При этом каждый предыдущий компонент каскада активирует несколько последующих за счет их ферментативного расщепления.

При распаде компонентов комплемента обычно образуется 2 фрагмента. *Большой фрагмент* обозначается малой латинской буквой «**b**» и является **активным**, продолжая каскад расщепления. Меньшие фрагменты в дальнейшей активации комплемента обычно не участвуют, однако проявляются многообразными биологическими функциями. Они обозначаются малой латинской буквой «**a**». Единственное исключение из этого правила – фактор С2. Комплексы активированных компонентов обозначаются сверху чертой.

Белки альтернативного пути активации получили название **факторов** и обозначаются большими латинскими буквами (В, D, H, I и др.)

Среди регуляторных белков различают естественный *ингибитор компонента комплемента С1 (С1-ингибитор)*, который тормозит спонтанную активацию С1q компонента. При его дефиците возникает *наследственный ангионевротический отек*. Кроме этого существует *фактор DAF*, ускоряющий деградацию С3b компонента комплемента на мембранах собственных клеток организма, предотвращая их лизис.

Классический и лектиновый пути активации системы комплемента

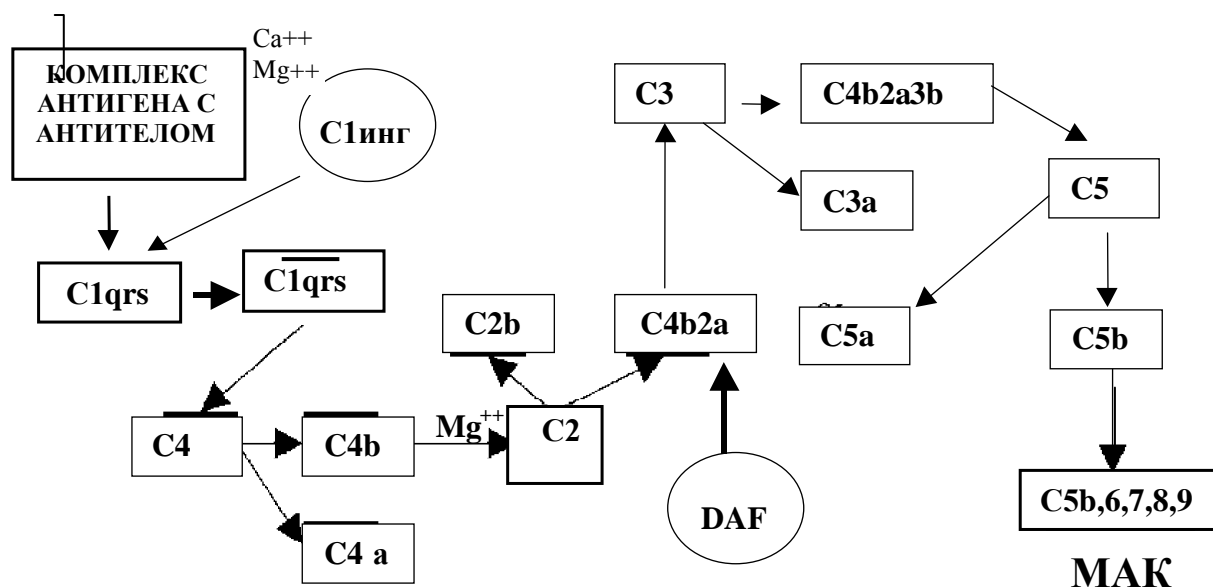
Классический путь активации запускается **комплексом антиген-антитело** в присутствии катионов Са и Mg обычно на

поверхности клетки-мишени (см. рис. 4.1.). Эффективными активаторами данного пути являются АТ классов *IgG* и *IgM*.

Такие АТ получили название «*лизины*», поскольку они инициируют лизис бактерий, грибов, простейших и животных клеток.

Комплекс «антиген-антитело» связывается с компонентом комплемента C1q через Fc-фрагмент иммуноглобулина G или M.

C1q присоединяет C1rs, а затем активирует и расщепляет C4 на C4a и C4b. C4b присоединяется либо к C1, либо к поверхности клетки-мишени. Далее к нему присоединяется C2. Он, в свою очередь, расщепляется на C2a и C2b предыдущим компонентом. **C2a** остается связанным с **C4b**. Комплекс **C4bC2a** получил название **конвертазы классического пути** активации комплемента. Она расщепляет C3 компонент на C3a и C3b. **C3b** присоединяется к конвертазе классического пути, образуется **конвертаза C5 компонента C4bC2aC3b**, и этот макромолекулярный комплекс активирует компонент C5. Он распадается на C5a и C5b. К C5b на мембране клетки-мишени последовательно присоединяются C6, C7, C8. Этот комплекс встраивается в мембрану клетки-мишени и к нему может присоединиться до 20 молекул C9 компонента.



C3a и C5a - анафилатоксины

C4b2a- конвертаза классического пути

Рис. 4.1. Классический путь активации комплемента

Комплекс ***C5b-C9*** получил название ***мембраноатакующего комплекса (МАК)***. В механизме его литического действия много общего с цитотоксическим белком *перфорином*. МАК встраивается в мембрану клетки-мишени за счет гидрофобных взаимодействий, образуя трансмембранный канал. Через него в клетку поступают ионы натрия и вода, а выходят ионы калия, что приводит к ***цитолизу***.

Лектиновый путь активации комплемента отличается только природой иммунного комплекса, запускающего начальный этап активации. Со стороны иммунной системы здесь участвуют белки-***лектины***, связывающие полисахаридные компоненты бактерий (например, маннозосвязывающий лектин, С-реактивный белок и т.д.). Общий ход лектинового пути отражает классический путь активации.

В частности, маннозосвязывающий лектин (***МСЛ***) плазмы крови взаимодействует с углеводными остатками в полисахаридах наружной мембраны бактерий (например, остатками маннозы в липополисахариде). Связывание МСЛ с бактериальными углеводами активирует МСЛ-ассоциированную сериновую протеазу, которая гидролизует компонент С4 классического пути. В дальнейшем лектиновый путь повторяет этапы активации классического пути.

Альтернативный путь активации

Альтернативный путь активации комплемента (рис. 4.2) является ***неспецифическим***.

Центральным звеном альтернативного пути является ***С3b компонент***. Следовые его количества постоянно присутствуют в сыворотке вследствие спонтанного гидролиза С3. Этот процесс запускается и усиливается *липополисахаридами клеточной стенки бактерий* (эндотоксинами), агрегированными иммуноглобулинами, лекарственными препаратами и т.д. Образующийся при этом С3b-компонент в присутствии ионов магния связывается с фактором ***В*** сыворотки (неактивная сериновая протеаза). На комплекс С3bВ действует фактор ***Д*** – активная сывороточная протеаза. Она расщепляет фактор В на Ва и Вb. Образующийся комплекс ***С3bВb*** представляет собой ***конвертазу альтернативного пути*** активации. В норме она неустойчива, но стабилизируется белком ***пропердином (белок Р)***. Конвертаза альтернативного пути присоединяет еще одну молекулу С3b, образуется ***конвертаза С5 компонента С3bВbС3b***, которая активирует С5. Дальнейшая активация комплемента не

отличается от классического пути. Таким образом, C3-компонент является ведущим в активации комплемента по обоим путям, определяя процессы цитолиза.

В процессе активации комплемента образуются биологически активные фрагменты. Так, компоненты **C3a**, C4a и **C5a** служат **анафилатоксинами**, действуя на макрофаги, гранулоциты, тучные клетки. Они вызывают выделение из них медиаторов, дегрануляцию тучных клеток и базофилов. Возникающий патологический процесс клинически проявляется **аллергическими** и псевдоаллергическими **реакциями**, воспалением и повреждением тканей.

При заболеваниях, сопровождающихся образованием иммунных комплексов (аутоиммунные болезни, инфекции), уровень белков комплемента снижается – гипокомплементемия. Уровень комплемента наиболее высок у морских свинок, поэтому их сыворотка крови используется как «комплемент» в серологических реакциях.

Компоненты активированного комплемента связываются с рецепторами комплемента, имеющимися на лейкоцитах. Основной рецептор **CR1 (CD35)** связывает C3b, кроме того, рецепторами к компонентам комплемента являются лейкоцитарные интегрины. Взаимодействуя с этими рецепторами клеток, продукты активации комплемента стимулируют функции лейкоцитов (**опсонизация**), запускают воспаление; усиливают противомикробный иммунитет.

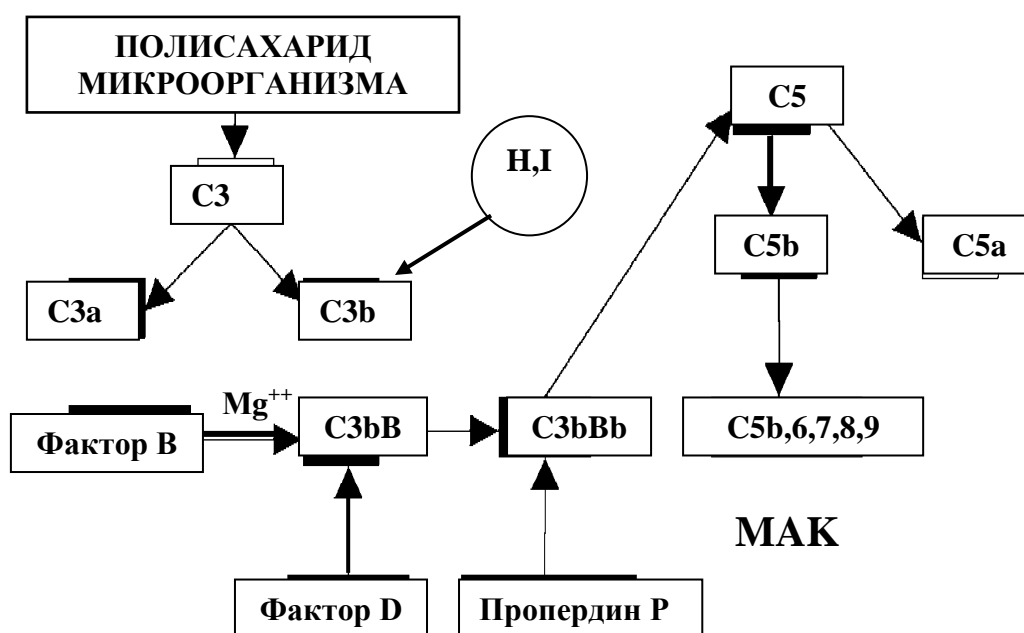


Рис. 4.2. Альтернативный путь активации комплемента

Активность комплемента регулируется множеством сывороточных и тканевых белков.

Для того чтобы МАК не разрушал собственные клетки организма, его образование может быть блокировано растворимыми сывороточными факторами (S-фактор – белок *витронектин*). Кроме того, имеющийся на мембранах клеток рецептор CD59 препятствует присоединению к МАК компонента C9.

Фактор **DAF** (англ. *decay-accelerating factor*) ускоряет диссоциацию C3-конвертаз обоих путей активации. DAF присутствует на мембранах клеток крови, предохраняя их от лизиса комплементом.

Ингибитор C1 компонента комплемента (**C1-ингибитор**) блокирует протеазную активность компонентов C1r и C1s.

Основные **функции системы комплемента**:

- **лизис** клеток-мишеней (бактериальных, зараженных вирусом, опухолевых и др.);

- **опсонизация**, т.е. усиление фагоцитоза через рецепторы к компонентам комплемента;

- **удаление иммунных комплексов**, что препятствует их отложению в тканях;

- **хемотаксис**: некоторые фрагменты компонентов комплемента, например C3 или C5, стимулируют направленное движение нейтрофилов и других лейкоцитов в очаг воспаления;

- участие в **аллергии**: анафилатоксины C3a, C4a и C5a провоцируют дегрануляцию тучных клеток и базофилов с массивным высвобождением медиаторов аллергии.

Гуморальные факторы неспецифического (врожденного) иммунитета

Система гуморальных факторов врожденного иммунитета включает ферменты, растворимые белки и пептиды, которые поддерживают неспецифические иммунные реакции в биологических жидкостях (кровь, слюна, выделения слизистых, грудное молоко, слезная жидкость и т.д.).

Белки острой фазы воспаления, присутствующие в плазме крови, проявляют выраженную антимикробную активность. Их концентрация возрастает в процессе воспаления.

К ним относятся **С-реактивный белок (СРБ)**, маннозосвязывающий лектин (**МСЛ**), **альфа-2-макроглобулин**, **церулоплазмин**, ферритин, фибриноген, сывороточные компоненты амилоида и некоторые другие.

Их общие механизмы действия включают:

прочное неспецифическое связывание с микробными клетками с задержкой бактерий в очаге воспаления, предотвращение микробной адгезии, активацию фагоцитоза (опсонизация), активацию системы комплемента через лектиновый и альтернативный пути, снижение доступности ионов железа для бактерий, ингибирование токсинов и ферментов микроорганизмов.

С-реактивный белок и сывороточный амилоид относятся к семейству белков-**пентраксинов**, которые рассматриваются как особая группа *образ-распознающих рецепторов*.

К этой группе относится также белок плазмы крови **фибронектин**.

Лактоферрин представляет собой железосодержащий гликопротеин биологических жидкостей. Его противомикробное действие связано с высокой железосвязывающей способностью. Лишение (депривация) ионов железа для бактериальных клеток останавливает их рост и размножение.

Фермент **лизоцим** (или *мурамидаза*) разрушает гликозидные связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой в пептидогликане клеточной стенки бактерий (муреине). В итоге это приводит к лизису бактериальных клеток.

Кроме того, большое количество *низкомолекулярных антимикробных пептидов* постоянно выделяется клетками в биологических жидкостях. Среди них **дефензины** и **кателицидины** из лейкоцитов, бета-лизины тромбоцитов, гистатины и цистатины слюны и ряд других.

ГЛАВА 5. ДИНАМИКА ИММУННОГО ОТВЕТА

В условиях реального иммунного ответа при попадании сложного комплексного антигена в организм (например, бактериальной клетки или вируса) активируется широкий спектр иммунных реакций *врожденного* и *приобретенного* (адаптивного) *иммунитета*. Они разветвляются по *неспецифическим* и *специфическим* механизмам, могут быть *клеточными* и *гуморальными*.

Неспецифические механизмы иммунного ответа – врожденный иммунитет

Первоначально на антиген реагируют неспецифические *гуморальные и клеточные факторы врожденного иммунитета*. Более чем в 90% случаев этого бывает достаточно, чтобы предупредить развитие заболевания.

Главную роль в этих процессах играют мононуклеарная система фагоцитов, система гранулоцитов, ЕК-клетки, система комплемента, белки острой фазы воспаления (например, С-реактивный белок), естественные антитела.

После внедрения микробной клетки в макроорганизм одновременно развиваются несколько процессов.

Происходит *активация комплемента по альтернативному пути* через С3-компонент. В итоге образуется *МАК* – мембраноатакующий комплекс *C5b-C9*, который лизирует микробную клетку с появлением множества антигенных фрагментов. В результате активации комплемента также образуются другие биологически активные компоненты комплемента – *C3b*, а также *C3a* и *C5a* – *анафилатоксины*.

Эти компоненты усиливают иммунный ответ различными путями.

C3b связывается с поверхностью микробной клетки. Далее этот комплекс связывается с мембраной макрофага через рецептор для комплемента *CD35*. Тем самым он выступает в роли *опсонина*, вызывая накопление макрофагов в очаге воспаления и стимулируя их адгезию к клетками-мишеням.

Анафилатоксины, особенно C5a, являются наиболее мощными *хемоаттрактантами*. Они привлекают нейтрофилы и макрофаги, вызывая их оседание в очаге воспаления.

Белки острой фазы воспаления (С-реактивный белок, фибронектин и др.) связываются с микробной клеткой, препятствуя распространению бактерий. Кроме того, С-реактивный белок активирует комплемент по лектиновому пути с последующим образованием МАК и лизисом микробной клетки.

Естественные антитела обычно обладают полиреактивностью и низкой аффинностью к АГ. Обычно они продуцируются особой субпопуляцией CD5⁺ В-1-лимфоцитов. Вследствие разности в зарядах такие АТ связываются с АГ микробной клетки и могут активировать комплемент по классическому пути. Естественные АТ играют важную роль в иммунном ответе на полисахаридные АГ бактерий. Кроме того, они связываются с CD16-рецептором на поверхности нейтрофилов и макрофагов и стимулируют адгезию фагоцитов и клеток-мишеней, выступая в роли опсонов (*иммунный фагоцитоз*).

Также естественные АТ могут обладать собственной каталитической (*абзимной*) активностью, что приводит к гидролизу поступившего антигена.

Однако наибольшее значение в динамике иммунного ответа на первых этапах имеют неспецифические **клеточные реакции**.

Основную роль здесь играет *фагоцитоз* микробных клеток нейтрофилами и макрофагами. Под действием *хемокинов* (анафилатоксинов, ИЛ-8) они мигрируют и оседают в очаге воспаления. Сильным стимулятором хемотаксиса фагоцитов являются также компоненты клеточной стенки микроба. Далее происходит адгезия фагоцитов на клетках-мишенях. Она обеспечивается взаимодействием лектиновых рецепторов макрофага с полисахаридами клеточной стенки микроба, в результате процессов опсонизации микробов антителами и компонентами комплемента, а также через систему Toll-like рецепторов. Последнее взаимодействие играет особую роль, так как в зависимости от своей природы, АГ активирует определенный вид TLR. Это перенаправляет иммунный ответ либо по клеточному, либо по гуморальному пути.

Фагоциты поглощают АГ, далее активизируется *дыхательный взрыв* и происходит переваривание микробных клеток.

Одновременно макрофаги выделяют комплекс провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО, гамма-интерферон), которые активируют преимущественно *Tx1* с развитием **воспаления**.

Этот процесс может существенно усиливаться вследствие связывания ЛПС бактерий с CD14 рецептором макрофага и TLR-4. При этом массивный выброс провоспалительных цитокинов вызывает лихорадку и может приводить к эндотоксическому шоку.

Важным компонентом неспецифического ответа является действие *ЕК-клеток*. Установлено, что они могут атаковать большинство клеток-мишеней независимо от их происхождения. В организме на мембранах всех ядродержащих клеток имеются HLA АГ I класса. При взаимодействии с ними ЕК получают сигнал, который в норме подавляет их активацию. При изменении экспрессии HLA АГ I класса в результате поражения клетки вирусом или ее опухолевой трансформации происходит активация ЕК, выделение перфорины и лизис измененной клетки-мишени. Кроме того, ЕК активируются, взаимодействуя своими Fc-рецепторами с антителами, адсорбированными на мембранных АГ чужеродных клеток (*антителозависимая клеточная цитотоксичность*).

Приобретенный (адаптивный) иммунитет: иммунный ответ на Т-независимые антигены

Одновременно с действием неспецифических систем иммунитета активируются специфические факторы иммунной защиты – *Т-клетки*, несущие Т-клеточные рецепторы к антигену (*ТКР*) и *антителообразующие клетки* (*В-клетки* и *плазмоциты*).

Специфический иммунный ответ на Т-зависимые и Т-независимые АГ протекает по-разному.

Т-независимые АГ обычно являются высокомолекулярными чужеродными структурами, имеющими выраженный заряд. В первую очередь к ним относятся **полисахаридные АГ** бактерий (капсулярные полисахариды и ЛПС), а также бактериальные нуклеопротеины. Такие антигены способны связать перекрестно не менее двух молекул специфических поверхностных IgM или IgD на поверхности В-лимфоцита. Это является необходимым условием последующей дифференцировки и пролиферации В-клеток, их бластной трансформации и превращения в **плазмоциты**.

Так как в этом процессе не участвуют Т-клетки-хелперы и отсутствует продукция ИЛ-4, то не происходит *изотипического переключения* синтеза АТ с класса IgM на IgG или IgA. Даже при

повторном попадании тимуснезависимого АГ к нему по-прежнему будут вырабатываться АТ класса IgM.

Однако АТ класса IgM высокоэффективно активируют комплемент по классическому пути, а также могут проявлять абзимную каталитическую активность.

Тем не менее, очевидно, что наиболее эффективным и многостадийным является иммунный ответ на Т-зависимые АГ.

Специфический иммунный ответ на Т-зависимые АГ

Т-зависимый иммунный ответ требует *процессинга* и *представления (презентации)* АГ белковой природы.

При попадании таких антигенов в кожу или на слизистые оболочки они захватываются АПК. Наиболее активными АПК являются *дендритные клетки (ДК)*, в частности – *клетки Лангерганса*, фолликулярные дендритные клетки, а также макрофаги. В-лимфоциты также способны представлять АГ для Т-лимфоцитов.

Клетки Лангерганса из кожи мигрируют в регионарные лимфоузлы и превращаются в *интердигитирующие дендритные клетки*. Тем самым они осуществляют направленный транспорт АГ к Т-лимфоцитам, основная часть которых локализована в лимфоузлах. Сходные процессы происходят в слизистых оболочках. Антигены здесь связываются, обрабатываются местными ДК и макрофагами и представляются Т-лимфоцитам. Основная часть Т-лимфоцитов имеет $\alpha\beta$ -вариант Т-клеточного рецептора ($\alpha\beta$ -ТКР), тогда как многие Т-клетки лимфоидной ткани слизистых – $\gamma\delta$ -ТКР.

Обычно в процесс вовлекаются регионарные лимфатические узлы, где гиперплазируются фолликулы (В-зоны) и паракортикальные Т-зависимые зоны, а также мозговое вещество. Все зоны лимфоузла инфильтрируются лейкоцитами. Под влиянием антигенов, поступающих через приносящие лимфатические сосуды, резко активируются дендритные клетки и макрофаги, усиливается фагоцитоз. Внутри В-зависимых зон появляются плазматические клетки, а в Т-зонах – иммунные Т-лимфоциты, несущие специфические ТКР.

Т-зависимый иммунный ответ включает несколько основных этапов:

1. *процессинг и презентация* АГ;
2. *индуктивная фаза* с активацией и дифференцировкой Т-хелперных клеток и Т-цитотоксических лимфоцитов;
3. *эффекторная фаза*.

Процессинг и презентация АГ

Если антиген корпускулярный (микроб или другая частица), то он захватывается АПК (в первую очередь – дендритными клетками).

Во всех случаях Т-зависимого иммунного ответа *белковый антиген* должен подвергаться **протеолизу** с образованием набора *коротких пептидов (процессинг* антигена).

Поступающие извне **экзоантигены** (например, бактериальные или грибковые) после их захвата АПК подвергаются протеолизу в **эндосоме** (фагосоме).

Образуется множество пептидов, которые начинают взаимодействовать в цитоплазме с молекулами HLA. Из всего спектра антигенных пептидов только некоторая их часть может подобрать и специфически связаться с молекулой HLA индивидуального организма. Тем самым, пептиды, не реагирующие с молекулой HLA, будут ускользать от Т-клеточного иммунного ответа.

Пептиды **экзоантигенов** размером 12-25 аминокислотных остатков связываются в цитоплазмк с молекулами **HLA класса II** (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ). Далее они перемещаются на мембрану дендритных клеток и других АПК для связывания с **CD4+ Т-хелперами (представление или презентация АГ)**.

В роли **эндоантигенов** могут выступать АГ вирусов, внутриклеточных бактерий (хламидий, риккетсий), а также опухолевые АГ. Их процессинг происходит внутри **протеасомы** – цитоплазматического комплекса ферментов-протеаз. ЭндоАГ представляются на мембране зараженных клеток в комплексе с **HLA-антигеном I класса** для связывания с **CD8+ цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т-киллерами)**.

Связывание, процессинг и презентация АГ дендритными клетками играет важнейшую роль в перенаправлении иммунного ответа либо по клеточному, либо по гуморальному пути. Во многом это определяется типом рецептора из семейства TLR, который изначально взаимодействует с АГ на мембране АПК.

В частности, связывание микробных антигенов (в первую очередь – ЛПС грамотрицательных бактерий) с ***TLR-4*** на поверхности дендритных клеток активирует синтез *провоспалительных цитокинов* данными клетками (ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНОα и др.) Это стимулирует ***клеточно-опосредованный*** иммунный ответ и воспаление.

И наоборот, связывание других антигенов (липотейхоевых кислот грамположительных бактерий, бактериальных липопротеинов и др.) с ***TLR-2*** ведет к усилению продукции регуляторных цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 и др. При этом активируется ***гуморальный*** иммунитет с усилением ***продукции антител***. Стимуляция гуморального иммунитета наступает и в случае, если в роли АПК выступают В-лимфоциты.

Кроме того, взаимодействие антигенов и АПК через TLR ведет к усилению экспрессии ***костимулирующих молекул*** на мембранах дендритных клеток (см. ниже).

Индуктивная фаза

Ведущим событием, направляющим иммунологическую реактивность в сторону ***клеточных воспалительных реакций***, является превращение ***Tx0*** в Т-хелперы 1 типа (***Tx1***), тогда как конверсия ***Tx0*** в ***Tx2*** активирует ***гуморальный ответ*** и ***продукцию АТ*** (*функциональная поляризация Т-хелперов*).

Для стимуляции ***Tx0*** («наивных» Т-лимфоцитов) с превращением их в Т-хелперы первого или второго типа требуется несколько активирующих сигналов.

Антигенный пептид в комплексе с HLA II класса, представленный на мембране АПК, специфически взаимодействует с ***Tx0*** через ***Т-клеточный рецептор (I сигнал)***. Со стороны Т-хелпера во взаимодействии участвуют также CD4 и CD3.

Кроме АГ-специфической активации важную роль играет ***костимуляция*** Т-хелперов дендритными клетками. Она не зависит от специфичности АГ, и в ней участвуют особые ***костимулирующие молекулы (II сигнал)***.

Основными такими молекулами на поверхности АПК является CD80/86, а на соответствующем Т-лимфоците – CD28. Совокупность всех молекул, одновременно взаимодействующих на мембранах АПК

и лимфоидных клеток, получила название «**иммунологический синапс**».

Без костимуляции Т-клетка не вступает в пролиферацию и дифференцировку, а иммунный ответ может завершиться супрессией данного клона, т.е. **анергией**.

Совместно с костимуляцией дендритные клетки выделяют **комплекс цитокинов**, стимулирующих Тх0 (**III сигнал**). Как уже упоминалось, продукция цитокинов во многом определяет превращение Тх0 в Тх1 или Тх2.

Провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО стимулируют образование **Тх1**.

В свою очередь, **ИЛ-4**, ИЛ-10, ИЛ-13 ведут к образованию **Тх2**. Особенно вероятно превращение Тх0 в Тх2, если в роли антигенпредставляющей клетки выступает В-лимфоцит, несущий на своей поверхности костимулирующую молекулу CD40.

Тх1 и Тх2 полностью отличаются по спектру выделяемых цитокинов. Это определяет направление, в каком иммунный ответ будет развиваться далее.

Главные цитокины, выделяемые **Тх1** – **γ -интерферон**, **ИЛ-2**, лимфотоксин (или **β -ФНО**). Их продукция стимулирует клеточное воспаление.

Тх2 выделяют **ИЛ-4**, **ИЛ-5**, **ИЛ-6**, **ИЛ-10**, **ИЛ-13** и некоторые другие, которые стимулируют В-лимфоциты и антителогенез, что приводит к активации гуморальных иммунных реакций.

Помимо превращения в Тх1 или Тх2, «наивные» Т-хелперы могут дифференцироваться в другие специализированные популяции Т-хелперов.

Т-хелперы 17 (Тх17) играют важную роль в реакциях как **клеточного**, так и **гуморального** иммунитета. Они происходят из Тх0 под влиянием ИЛ-23, продуцируемого дендритными клетками, а также ИЛ-21 и ТФР-бета.

Тх17 синтезируют одноименный интерлейкин **ИЛ-17**, а также ИЛ-21, ИЛ-22 и другие цитокины.

Еще одной особой хелперной популяцией являются **фолликулярные хелперные клетки** или **Т_{ФХ}**. Их линия развивается из «наивных» Тх0 в фолликулах лимфатических узлов после контакта с антигенпрезентирующими В-клетками с участием ИЛ-21.

Эффекторная фаза

Образующиеся *Tx1* через выделение *γ-интерферона* стимулируют *макрофаги*, которые в большом количестве выделяют провоспалительные цитокины, в первую очередь ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18 и ФНО. Эти цитокины по механизму положительной обратной связи вновь стимулируют Tx1 и подавляют Tx2.

Развивается *клеточный* иммунный ответ – прогрессирует *воспалительная реакция*, активируется *фагоцитоз*. В свою очередь, секреция ИЛ-2 Т-хелперами 1 типа вовлекает в активацию другие популяции лимфоцитов.

С другой стороны, образующиеся *Tx2* активируют *В-клетки*, выделяя *ИЛ-4*. Для стимуляции антителогенеза недостаточно выделения факторов роста В-клеток (ИЛ-4 и ИЛ-6). Tx2 прямо взаимодействуют с В-лимфоцитами. Активированные Tx2 экспрессируют лиганд CD40L (или молекула *CD154*). CD40L взаимодействует с CD40 рецептором на В-клетках, и возникает костимуляция этих клеток. В-лимфоциты вступают в *бласт-трансформацию*, превращаются в *плазматические клетки*, которые синтезируют *антитела*. Развивается *гуморальный* иммунный ответ.

Кроме того, только после взаимодействия с Tx2 и ИЛ-4 В-клетки способны переключаться с синтеза IgM на синтез IgG (*изотипическое переключение*). Цитокины, выделяемые Tx2, через взаимодействие со своими рецепторами стимулируют рекомбинацию генов, кодирующих переменные и константные участки цепей ИГ. Кроме того, эти цитокины активируют *соматический гипермутагенез* в В-лимфоцитах, что приводит к синтезу В-клетками *высокоаффинных АТ*.

Остальные популяции Т-хелперов также интенсивно стимулируют эффекторные иммунные реакции.

В частности, активированные *Tx17* начинают продуцировать цитокины ИЛ-17, ИЛ-21 и ИЛ-22. В результате активируются многочисленные линии иммунных и неиммунных клеток (Т-лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги, ЕК-клетки, В-клетки, эпителиальные и эндотелиальные клетки). При этом усиливается *фагоцитоз* и *синтез антител*, ускоряется созревание миелоидных клеток, развивается хроническое воспаление в тканях. В ряде случаев стимуляция Tx17 может приводить к *аутоиммунным реакциям*.

Активированные *фолликулярные Т-хелперные клетки (Т_{ФХ})* стимулируют превращение фолликулярных *В-лимфоцитов* в

долгоживущие плазматические клетки, секретирующие антитела, и в **В-лимфоциты памяти**.

Против вирусов и некоторых внутриклеточных бактерий (хламидии, риккетсии) иммунитет развивается иначе. **Эндоантиген**, экспрессированный на мембране пораженной клетки, активирует CD8(+) **цитотоксические Т-лимфоциты**, которые имеют к нему соответствующий **ТКР**. CD8(+) Т-лимфоцит распознает такой антиген лишь в комплексе с молекулами **HLA I класса**, которые есть на всех ядродержащих клетках. После контакта с этим комплексом при участии костимулирующих молекул и цитокинов CD8(+) Т-клетки активируются и делятся. В итоге их антигензависимой дифференцировки возникают зрелые **цитотоксические Т-клетки-эффекторы (Т-киллеры)**, а также **клетки памяти**.

Т-цитотоксические эффекторы вызывают гибель клеток, несущих вирусный или другой антиген на поверхности. Их основной поражающий механизм – активация **апоптоза** клетки-мишени.

После распознавания АГ Т-киллеры выделяют **перфорин** и ферменты-гидролазы (**гранзимы**). **Перфорин** действует в качестве **порообразующего** токсина, образуя канал в клеточной мембране. Это позволяет **гранзимам** проникать в пораженную клетку и стимулировать ее апоптоз посредством активации ферментов **каспаз**.

Кроме того, Т-киллеры экспрессируют на своей поверхности Fas-лиганд (**FasL** или CD178), который взаимодействует с CD95 на поверхности зараженных клеток и также активирует их **апоптоз**.

Дополнительно Т-цитотоксические лимфоциты выделяют **гамма-интерферон**, который препятствует репликации вирусов и активирует естественные киллеры, которые разрушают инфицированные клетки.

Естественное угнетение иммунного ответа

На заключительных этапах происходит естественное угнетение иммунного ответа. Это предупреждает возникновение и развитие аутоиммунных реакций.

Лишь небольшая часть Т- и В-лимфоцитов с высокоаффинными рецепторами к АГ превращается в покоящиеся долгоживущие клетки памяти. Большинство активированных лимфоцитов после исчезновения антигена быстро элиминируется.

Механизмы ограничения иммунного ответа весьма различны.

Во-первых, все выделяемые **цитокины** действуют только *аутокринно* и *паракринно* и выделяются в пикомолярных концентрациях. Только при тяжелых поражениях они действуют системно, что приводит, например, к эндотоксическому шоку. Обычно же иммунный ответ развивается местно в лимфоидной системе, не затрагивая другие органы и ткани.

Во-вторых, цитокины вступают в сложные перекрестные сетевые взаимодействия со **взаимным угнетением**. Так, выделение *ИЛ-10* подавляет выделение всех типов цитокинов. *ИЛ-12* подавляет выделение цитокинов Тх2, блокируя гуморальный иммунитет. В свою очередь, *ИЛ-4* блокирует Тх1.

Мощной ингибирующей активностью в отношении всех типов клеток обладает трансформирующий фактор роста бета (*ТФР-бета*).

В-третьих, при активации Т-клеток происходит **смена костимулирующих молекул**. Если **CD80/86** на поверхности АПК стимулируют активацию Тх через **CD28**, то в ходе иммунного ответа CD28 меняются на **CD152**, что приводит к остановке пролиферации Т-клеток и их **апоптозу**.

Аналогично действуют молекулы «контрольных точек» **PD-1**, которые также появляются на *активированных Т-лимфоцитах*. Взаимодействие PD-1 с их лигандами стимулирует **апоптоз** активированных Т-клеток, предотвращая тем самым аутоиммунные реакции.

В-четвертых, многие из активированных лимфоцитов, включая плазмочиты, на своей поверхности увеличивают экспрессию **рецептора апоптоза CD95 Fas/Apo**. С другой стороны, некоторая часть Т-клеток начинает экспрессировать Fas-лиганд. Такие Т-клетки взаимодействуют с активированными Т- и В-лимфоцитами за счет CD95 и также вызывают их **апоптоз**.

Большинство из указанных механизмов связано с функцией **регуляторных Т-клеток**. Эта группа включает Т-лимфоциты, проявляющие выраженную **супрессорную активность**.

Некоторые из них образуются на исходе антигенной стимуляции. Среди них выделяют ингибиторные CD4(+) Т-лимфоциты, продуцирующие IL-10; Тх3, секретирующие ТФР-бета, и ряд других.

Основная же доля таких лимфоцитов (до 3% от общего числа Т-клеток) дифференцируется в **регуляторные Т-лимфоциты (Трег)** сразу после контакта с АГ. Их ведущая функция – **подавление** иммунных реакций. Мембранными маркерами Трег являются молекулы CD4 и CD25.

В отличие от других лимфоцитов, регуляторные Т-клетки содержат активную форму фактора транскрипции *Foxp3*. Данный фактор высокоспецифичен для Трег. Он кодируется геном *foxp3*, локализованным в Х-хромосоме.

После распознавания антигена, представленного на ДК, регуляторные Т-клетки экспрессируют ингибиторную молекулу CTLA-4 (*CD-152*). Это останавливает активацию ДК и других иммунных клеток. Кроме того, регуляторные Т-лимфоциты выделяют значительные количества супрессорных цитокинов *ТФР-бета* и *ИЛ-10*, что предотвращает пролиферацию иммунореактивных лимфоцитов. Активность Трег максимальна на заключительных этапах иммунного ответа.

Наконец, регуляция иммунных реакций может осуществляться также по механизму *идиотип-антиидиотипической сети*.

Сущность данного механизма заключается в следующем. К одному и тому же АГ антитела синтезируются различными клонами лимфоцитов. Такие АТ (или, аналогично – Т-клеточные рецепторы) будут несколько отличаться по строению друг от друга. В активном центре таких АТ или рецепторов находятся уникальные антигенные детерминанты, присущие только данному клону лимфоцитов и отличающие его от любых других. Они получили название *идиотопов*. Совокупность всех идиотопов данного антитела получила название *идиотипа*. Расположение идиотопов в молекуле АТ обычно соответствует области антигенсвязывающего участка АТ – паратопа.

При развертывании иммунного ответа первоначально синтезируются АТ первого поколения, направленные к данному АГ. Они получили название *идиотипических антител* (несущих идиотип). К их активным центрам, в свою очередь, впоследствии вырабатываются *АТ второго поколения – антиидиотипические*. Они блокируют синтез идиотипических АТ. Так осуществляется естественное затухание иммунного ответа, снижающее вероятность развития аутоиммунных процессов. До следующей встречи с АГ информация о нем будет находиться в долгоживущих клонах клеток памяти.

Понятие о первичном и вторичном иммунном ответе

После взаимодействия с антигеном иммунные реакции развиваются через стадии первичного и вторичного иммунного ответа, которые имеют свои особенности.

Первичный иммунный ответ возникает после первоначального контакта иммунной системы с антигеном. Для него характерен *латентный период* (3-5 дней). Первыми синтезируются антитела класса IgM (выявляются в конце латентного периода), а затем АТ класса IgG (пик их концентраций наблюдается на 10-14 сутки; IgG могут сохраняться в сниженных титрах в течение всей жизни). В слизистых начинают синтезироваться АТ класса IgA. Далее АТ связывают АГ, образуются иммунные комплексы «антиген-антитело». Одновременно уже с 3-5 суток появляются иммунные Т-лимфоциты. В зависимости от вида антигена преобладают или антитела, или активированные Т-лимфоциты.

Первичный иммунный ответ обычно затихает через 2-3 недели от момента антигенной стимуляции. После него остаются лимфоциты памяти, и может долго поддерживаться следовой уровень IgG-антител.

Вторичный иммунный ответ развивается после повторного контакта системы иммунитета с антигенами. Долгоживущие клоны антигенспецифических Т- и В-лимфоцитов ответственны за «память» об антигене. Они несут мембранные антигенспецифические рецепторы и способны к рециркуляции между кровотоком, костным мозгом и тканями.

При вторичном иммунном ответе за счет клеток памяти нарастание уровней АТ и иммунных Т-клеток происходит очень быстро. Латентный период может отсутствовать или укорачивается до 1-3 дней. Количество антител резко увеличивается, причем сразу синтезируются АТ класса IgG и IgA. Антитела класса IgG доминируют при вторичном иммунном ответе, их титры во много раз больше, чем при первичном ответе. Возрастает их сродство (аффинность) к антигену. Часть антител связывается с Fc-рецепторами лейкоцитов. Высокие уровни АТ сохраняются в кровотоке в течение длительного времени.

Как правило, иммунный ответ, достигнув своего пика, затухает. Основой супрессии служат два процесса: *элиминация антигена* или резкое уменьшение его количества в конце иммунного ответа, а также включение комплекса *специфических регуляторных механизмов*. Этот

регуляторный комплекс включает клетки с соответствующими рецепторами и цитокины (см. выше).

Способность к иммунному ответу *изменяется с возрастом*. В организме новорожденного функционируют уже все механизмы системы иммунитета, однако дети первых месяцев и даже первых лет жизни иначе, чем взрослые реагируют на антигены. Защита новорожденных от микроорганизмов обеспечивается антителами – иммуноглобулинами класса G, проходящими трансплацентарно от матери. Существенный вклад в поддержание иммунологической реактивности детей вносит поступление секреторных иммуноглобулинов A, лизоцима и даже иммунокомпетентных клеток с молоком матери. У многих пожилых людей, особенно на фоне вирусных инфекций и других заболеваний, наблюдается снижение иммунологической реактивности и повышение чувствительности к инфекции.

Нервная и эндокринная системы осуществляют всестороннюю регуляцию функций системы иммунитета. Гормоны и медиаторы эндокринной и вегетативной нервной системы взаимодействуют с соответствующими рецепторами иммунных клеток и модулируют их функции – усиливают или угнетают. На клетках системы иммунитета широко представлены рецепторы для гормонов, медиаторов, нейропептидов. В частности, АКТГ и глюкокортикостероиды подавляют пролиферацию лимфоцитов, но усиливают выход нейтрофилов в периферическую кровь.

Иммунологическая толерантность

В ряде случаев система иммунитета не способна к ответу на определенные АГ. Такая неответаемость получила название *иммунологической толерантности* (толерантность – терпимость, неответаемость). Толерантность характеризуется *специфическим подавлением* или полным отсутствием иммунного ответа на АГ.

Антигены, взаимодействие с которыми приводит к развитию толерантности, получили название *толерогенов*. Данное явление носит избирательный характер – для некоторых клонов клеток антиген выступает в роли толерогена, для других – сохраняет иммуногенность.

Различают *центральную* (или *врожденную*) и *периферическую* (приобретенную) толерантность. Формирование центральной

толерантности происходит в центральных органах иммунитета – в тимусе и красном костном мозге, и затрагивает незрелые иммунные клетки, периферическая толерантность связана со зрелыми Т- и В-лимфоцитами.

Феномен толерантности играет важнейшую роль в гомеостазе, поддерживая неотвечаемость системы иммунитета на собственные молекулы, клетки, ткани и органы (**ауто толерантность**).

На ранних этапах дифференцировки в организме человека образуется множество Т- и В-лимфоцитов, каждый из которых несет на своей мембране уникальный рецептор к АГ (ТКР или ВКР, соответственно). Исходный набор специфичностей данных рецепторов (*иммунологический репертуар*) является максимально широким. Это обусловлено случайной рекомбинацией генных сегментов, кодирующих активные центры АГ и ТКР.

В результате среди всех первичных клонов Т- и В-лимфоцитов неизбежно появляются клетки, реагирующие на собственные структуры макроорганизма. Для предотвращения аутоиммунных реакций требуется их удаление или инактивация.

Ведущую роль здесь играют механизмы **центральной толерантности**. В ходе дифференцировки в тимусе происходит представление собственных АГ незрелым Т-лимфоцитам (тимоцитам). Большинство Т-клеток, рецепторы которых обладают *высоким сродством* (или аффинностью) к *собственным АГ*, удаляются путем **апоптоза** (делеция аутореактивных клонов). Некоторые из таких клеток превращаются в *регуляторные Т-лимфоциты (Трег)*. Они мигрируют в лимфоидные ткани и органы, где участвуют в поддержании периферической толерантности к собственным АГ (подавление иммунного ответа путем выделения супрессорных цитокинов **ТФР-бета** и **ИЛ-10**).

Для незрелых В-лимфоцитов, наряду с клональной делецией, существует дополнительный механизм, приводящий к удалению аутореактивных лимфоидных клеток.

В-лимфоциты, рецепторы которых связывают собственные АГ с выраженной аффинностью, подвергаются **редактированию рецепторов**. В таких В-лимфоцитах запускается новая перестройка генов, кодирующих ВКР. Это должно приводить к уменьшению или полной потере связывания ВКР с антигенами своих клеток.

Однако в случае неэффективного редактирования, клоны незрелых В-клеток, сохраняющие ВКР с высоким сродством против

собственных тканей, также устраняются **апоптозом** (**отрицательная селекция** аутореактивных В-лимфоцитов).

Механизмы приобретенной **периферической толерантности** поддерживают неответчаемость в отношении не только собственных, но и внешних антигенов (экзоАГ) инфекционной и неинфекционной природы.

Приобретенные виды толерантности связаны с **анергией** из-за **отсутствия костимуляции** иммунных клеток, а также с действием **регуляторных Т-лимфоцитов** с **супрессорной** функцией.

Кроме того, на поверхности активированных лимфоцитов в ходе иммунного ответа закономерно появляются **ингибиторные костимулирующие молекулы**, такие как **CD152**, **PD-1** и др. Их стимуляция другими клетками может запускать апоптоз АГ-специфических лимфоцитов с развитием толерантности к избранным антигенам. Данный механизм используется, в частности, опухолевыми клетками, обеспечивая их ускользание от иммунологического надзора и длительное выживание.

Толерантность нарушается при развитии аутоиммунных заболеваний из-за изменения собственных структур организма вследствие мутаций, повреждения или инфицирования. Кроме того, к срыву толерантности приводят нарушения функции регуляторных Т-лимфоцитов, а также явление **антигенной мимикрии**, когда возникает перекрестная реактивность системы иммунитета к микробным АГ и схожим с ними собственным АГ. Данное явление возникает при стрептококковых инфекциях, некоторых вирусных заболеваниях.

Некоторые органы и ткани находятся в организме за гистогематическими барьерами (щитовидная железа, хрусталик глаза, тестикулярная ткань, компоненты ЦНС и т.д.). В норме они недоступны для иммунных клеток, и иммунный ответ на них также не развивается. Однако часть лимфоцитов сохраняет к ним специфические рецепторы, и при нарушении тканевых барьеров данные ткани могут разрушаться аутореактивными лимфоцитами с развитием аутоиммунных процессов.

В целом к полезным видам толерантности можно отнести ауто толерантность, толерантность матери к антигенам плода, приобретенную толерантность к аллергенам при проведении иммунотерапии, толерантность реципиента к донорским органам после их трансплантации. Патологические виды – это анергия, неответчаемость на вирулентные микроорганизмы.

Особенности иммунитета в системе «мать-плод»

Организм плода при беременности вступает в сложные взаимоотношения с системой иммунитета матери. Так как половину генов и соответствующих антигенов, включая молекулы комплекса HLA, он наследует от отца, существует целый ряд защитных механизмов, предохраняющих эмбрион от повреждающего действия факторов иммунитета организма матери.

Ведущим из них является разобщение кровотока матери и плода (барьерная функция **плаценты**). Поступление нутриентов к плоду, удаление продуктов метаболизма и газообмен в плаценте происходят через плотные слои клеток **трофобласта**. Они являются эффективным барьером не только для иммунных клеток, но и для крупных молекул из крови матери, таких как иммуноглобулины. Поэтому, например, естественные антитела класса IgM, направленные к мембранным полисахаридным АГ эритроцитов или других клеток, не проникают в кровоток плода. Специальный механизм трансплацентарного переноса существует только для IgG. Тем самым материнские **АТ класса IgG** становятся основными факторами **гуморального пассивного иммунитета**, защищающими плод во время беременности и организм новорожденного в течение первых месяцев жизни.

Помимо непосредственной барьерной функции, в плаценте реализуются многочисленные иммунологические механизмы, поддерживающие толерантность системы иммунитета матери в отношении тканей плода.

На клетках трофобласта **отсутствуют** основные **молекулы системы HLA I и II классов** (помимо HLA-C). Тем самым эти клетки не распознаются системой иммунитета матери. Однако на их мембранах имеются особые неpolиморфные молекулы HLA I класса – **HLA-G** и **HLA-E**, выполняющие протективную функцию. Они защищают трофобласт, подавляя активность материнских естественных киллеров. Также на трофобласте **не представлены костимулирующие молекулы**. Кроме того, на клетках трофобласта активно экспрессируется **Fas-лиганд**, запускаящий апоптоз иммунцитов. Также трофобластические клетки более устойчивы к литическому действию комплемента.

Децидуальные клетки, примыкающие к трофобласту, оказывают **иммуносупрессивное действие** на макрофаги и Т-лимфоциты. Они

выделяют ингибирующие цитокины, такие как **ТФР-бета**. В децидуальной ткани повышено содержание **регуляторных Т-лимфоцитов**, которые также угнетают локальный иммунный ответ. Дополнительно децидуальные клетки экспрессируют молекулы **галектина-1**, взаимодействие с которым ведет к образованию **толерогенных дендритных клеток**.

Наконец, сама плацента является высокоактивным эндокринным органом, где продуцируются многие гормоны и медиаторы. Выделяемые плацентой **хорионический гонадотропин** и пептид **нейрокинин В** оказывают ингибирующее влияние на иммунитет.

Антигены плода (**фетальные белки**) также обладают **иммуносупрессивным действием**. К ним относятся **альфа-фетопротеин (АФП)**, карбогидратный АГ СА-125 и некоторые другие.

Согласованное действие всех вышеприведенных механизмов обеспечивает для плода **«иммунопривилегированное состояние»**. Данное состояние вносит существенный вклад в нормальное протекание беременности, и его нарушение может приводить к невынашиванию. С другой стороны, существуют указания, что снижение толерантности к тканям плода является одним из пусковых механизмов для начала родовой деятельности.

Глава 6.

ИММУННЫЕ И НЕИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

(Для студентов стоматологического факультета)

Микрофлора ротовой полости находится в постоянном взаимодействии с разнообразными защитными факторами, находящимися в полости рта.

При контакте бактериальных клеток или вирусов, обладающих сложными комплексными антигенами, со слизистой ротовой полости, реакции, направленные на элиминацию возбудителей, разворачиваются по иммунным и неиммунным механизмам.

Неспецифические механизмы защиты ротовой полости

Важнейшую роль в предохранении ротовой полости от воздействия микроорганизмов играет **слюна** (точнее, **ротовая жидкость**), а также **барьерная функция клеток** слизистой оболочки и подслизистого слоя. Поток слюны удаляет углеводы с поверхности зубов. За сутки слюнные железы секретируют от 0,5 до 2,0 л слюны. В состав слюны входит наиболее мощный бикарбонатный буфер, который поддерживает рН ротовой полости в пределах 6.7-7.3. Однако через зубную бляшку компоненты слюны диффундируют медленно, поэтому в центре бляшки рН может снижаться до 5.0 и ниже.

Окислительно-восстановительный (редокс) потенциал существенно влияет как на протекание ферментативных реакций в полости рта, так и на рост и развитие микробных популяций. Его величина сильно зависит от концентрации молекулярного кислорода. Положительный редокс-потенциал соответствует аэробным условиям, отрицательный – анаэробным. Слюна, поверхность спинки языка, слизистый эпителий щек и неба имеет положительный редокс-потенциал (+158-540 мВ), десневые бороздки (щели) и мезиальные поверхности зубов – отрицательный (–300 мВ). В зубной бляшке по мере ее созревания через 7 дней потенциал снижается с (+294 мВ) до (–140 мВ). Поэтому там успешно развиваются анаэробные микроорганизмы.

Гуморальными факторами неспецифической защиты полости рта являются муцины, гликопротеины, лактоферрин, лизоцим, пероксидаза, гистатины и цистатины. Они входят в состав слюны и десневой жидкости.

Муцины – это высокополимерные гликопротеины, продуцирующиеся главным образом подчелюстной и подъязычной слюнными железами. В слюне содержится 2 основных типа муцинов – **MG1** и **MG2**. Первый из них имеет молекулярную массу более 1 млн Да и покрывает слизистые ротовой полости, **MG2** (молекулярная масса 125 тыс. Да) препятствует агрегации и адгезии кариесогенных стрептококков. Вязкий слой муцина захватывает микроорганизмы, их антигены, препятствуя пенетрации возбудителей. Также он уменьшает кислотную деминерализацию зуба.

Гликопротеины слюны блокируют адгезию бактерий к тканям ротовой полости.

Лизоцим (мурамидаза) гидролизует гликозидные связи между ацетил-глюкозамином и ацетилмурамовой кислотой в муреине, что приводит к разрушению клеточной стенки бактерий.

Также лизоцим может связывать одновалентные анионы (тиоцианат, перхлорат, йодиды, бромиды, фториды и т.д.). Такой комплекс дополнительно дестабилизирует оболочку бактериальных клеток. Это приводит к активации автолизина с гибелью микроорганизмов.

Лактоферрин – железосодержащий транспортный белок, который синтезируется в гранулоцитах. Антимикробное действие лактоферрина обеспечивается его способностью связывать катионы железа, необходимые для роста и размножения бактерий. Наблюдается синергизм антимикробного действия лактоферрина с антителами.

Лишенный катионов железа лактоферрин (*аполактоферрин*) способен прямо агглютинировать кариесогенные микроорганизмы (*S. mutans*, *P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*).

Пероксидаза слюны препятствует развитию зубного налета, прогрессированию гингивита и кариеса. Это термостабильный фермент, который в комплексе с перекисью водорода проявляет бактерицидное действие. Он устойчив к действию пищеварительных ферментов, активен в широком диапазоне pH от 3,0 до 7,0.

Гистатины (гистидин-содержащие пептиды) – это семейство небольших основных пептидов молекулярной массой 3-5 кДа. Они

образуются в ацинарных клетках. Гистатины блокируют рост *S. mutans*, *C. albicans*, агрегацию порфириомонад и стрептококков.

Цистатины представляют собой цистеин-содержащие фосфопротеины, которые попадают в ротовую полость через десневую жидкость. Они блокируют цистеиновые протеазы патогенных бактерий.

Значительное место среди факторов неспецифической защиты занимает **система комплемента**. Происходит активация комплемента по альтернативному пути через С3-компонент. Такая активация может быть вызвана IgA. Тем не менее, условия для активации литического действия системы комплемента на слизистых оболочках рта менее благоприятны, чем в кровяном русле. В результате активации образуется **мембраноатакующий комплекс** C5b-C9, который лизирует микробную клетку.

Однако наиболее важную роль среди гуморальных защитных факторов в ротовой полости играют **иммуноглобулины класса А**. Они состоят из легких и тяжелых цепей. У человека различают 2 субкласса IgA: **IgA1** и **IgA2**. Молекулярная масса мономера составляет 150-160 тыс. Да. Находящиеся в секретах организма димерные и тримерные формы IgA имеют в составе **соединительную J-цепь** (15,6 кДа) и **секреторный S-компонент** (70 кДа), содержащий большое количество углеводов. Такие IgA обратным пиноцитозом выделяются через эпителиальные клетки в ротовую полость. У здоровых людей в строме всех желез внешней секреции (в том числе слюнных желез) и слизистых оболочек, сообщающихся с внешней средой, подавляющее большинство плазматических клеток продуцирует IgA. Их происхождение связано с **B-1-субпопуляцией** лимфоцитов.

Внутренние и внешние секреты полости рта по содержанию иммуноглобулинов различаются. Внутренние секреты представляют собой отделяемое десневых карманов, в которых содержание иммуноглобулинов соответствует их концентрации в сыворотке крови. Во внешних секретах, например, в слюне, количество IgA значительно превышает концентрацию IgA в сыворотке. Секреторный иммуноглобулин sIgA более устойчив к действию протеолитических ферментов по сравнению с сывороточным IgA. Соотношение IgA к IgG в слюне равно 100/1, для сравнения в сыворотке это соотношение равно 1/6.

Индукция секреторного IgA происходит как местно в полости рта, так и вследствие миграции сенсibilизированных

предшественников В-клеток из солитарных лимфоидных фолликулов и пейеровых бляшек желудочно-кишечного тракта в слюнные железы и лимфоидную ткань ротовой полости.

Секреторные иммуноглобулины sIgA выполняют несколько защитных функций. Они подавляют адгезию бактерий, нейтрализуют вирусы, факторы бактериальной вирулентности (токсины) и препятствуют всасыванию антигенов через слизистую оболочку (**иммунное исключение**). Так, например, sIgA-антитела предотвращают адгезию кариесогенного стрептококка *S. mutans* к эмали зуба, что препятствует развитию кариеса. При этом sIgA блокируют гликозилтрансферазу микроба. Аналогичное их действие отмечается в отношении *C. albicans*.

IgA-антитела усиливают действие муцинов, лактоферрина.

Наконец, IgA способны активировать иммунные клетки через Fc-рецепторы к IgA на мембранах макрофагов, лейкоцитов и Т-клеток (**антителозависимая клеточная цитотоксичность**).

Достаточный уровень sIgA-антител способен предотвратить развитие некоторых вирусных инфекций в полости рта, например, герпетической инфекции. У лиц с дефицитом sIgA вирусы беспрепятственно адсорбируются на слизистой оболочке рта и проникают в клетки. Антитела класса IgA препятствуют возникновению патологических процессов на слизистой оболочке, не вызывая ее повреждения, так как взаимодействие sIgA-антител с антигеном в отличие от антител G и M не вызывает активации системы комплемента по классическому пути. Из неспецифических факторов, способных стимулировать синтез sIgA, следует отметить витамин А.

Среди **клеточных неспецифических факторов** иммунной защиты существенную роль играют мононуклеарная система фагоцитов и система гранулоцитов.

В слюне здоровых людей всегда обнаруживаются полиморфно-ядерные лейкоциты, моноциты, лимфоциты, которые попадают в нее из гингивальных щелей и карманов. В десневой бороздке 90% клеток представлено полиморфнонуклеарными лейкоцитами, 10% составляют мононуклеары. Среди мононуклеаров 60% – это В-лимфоциты, 20-30% – Т-лимфоциты, 10-15% – макрофаги.

Происходит фагоцитоз микробных клеток нейтрофилами и макрофагами. Под действием хемокинов (компонентов комплемента С3а и С5а – анафилотоксинов, ИЛ-8) эти клетки мигрируют и оседают в очаге воспаления.

Фагоциты поглощают АГ, в фаголизосомах активируется дыхательный взрыв и происходит переваривание микробных клеток.

Одновременно макрофаги выделяют комплекс провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО, гамма-интерферон), которые активируют преимущественно Т-хелперы 1 типа (Тх1) с развитием воспаления.

Данный процесс может существенно усиливаться вследствие связывания липополисахарида (ЛПС) бактерий с CD14 рецептором макрофага. При этом массивный выброс провоспалительных цитокинов макрофагами вызывает воспаление.

Все вышеперечисленные механизмы приводят к элиминации патогенных агентов, вступивших в контакт с факторами защиты ротовой полости. В большинстве случаев этого бывает достаточно, чтобы предупредить развитие заболевания.

Однако при массивной антигенной стимуляции после внедрения микробной клетки в ткани полости рта активируются *специфические факторы иммунной защиты* – Т-клетки, несущие Т-клеточные рецепторы к антигену (ТКР), а также антителообразующие клетки (В-лимфоциты, плазмоциты).

Специфические механизмы иммунной защиты ротовой полости

Специфический иммунный ответ на Т-зависимые и Т-независимые АГ протекает по-разному. Наиболее эффективным и многостадийным является иммунный ответ на Т-зависимые АГ.

Он требует *процессинга* и *представления (презентации)* АГ.

При попадании АГ на слизистые оболочки полости рта и далее в подлежащие ткани, он захватывается антигенпредставляющими клетками (АПК).

Наиболее активными АПК являются клетки Лангерганса и макрофаги. Их много в слизистой ротовой полости. Клетки Лангерганса мигрируют в регионарные лимфоузлы и превращаются в интердигитирующие клетки. Тем самым они также осуществляют направленный транспорт АГ к Т-лимфоцитам, основная часть которых локализована в лимфоузлах.

Небольшие пептидные АГ (12-25 аминокислотных остатков) после переваривания (процессинга) в АПК снова экспрессируются на мембране и в комплексе с HLA-антигеном II класса взаимодействуют с CD4⁺ Т-хелперами (Т-хелперы нулевые). Тем самым Т-хелперы

получают I сигнал к активации. Со стороны Т-хелпера в распознавании комплекса HLA II-АГ участвует ТКР, CD3 и CD4.

Одновременно АПК экспрессируют костимулирующие молекулы (II сигнал активации) и секретируют цитокины, которые также стимулируют Т-хелперы (III сигнал).

В результате происходит дальнейшая дифференцировка Т-хелперов и образуются Тх1 и Тх2 (*поляризация Т-хелперов*). В первую очередь они отличаются по спектру выделяемых цитокинов. Это определяет направление, по которому пойдет далее иммунный ответ. Главные цитокины, выделяемые Тх1 – гамма-интерферон, β -ФНО, ИЛ-2. Они активируют процессы клеточного воспаления. В свою очередь, Тх2 выделяют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, которые стимулируют В-лимфоциты и антителогенез, что приводит к активации гуморальных иммунных реакций.

Образующиеся Тх1 активируют макрофаги, которые в большом количестве выделяют провоспалительные цитокины, в первую очередь гамма-интерферон и ИЛ-12, которые дополнительно стимулируют Тх1 и подавляют Тх2. Может развиваться клеточная *реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЧЗТ)*.

В свою очередь Тх2 активируют В-клетки. Для стимуляции антителогенеза недостаточно выделения факторов роста В-клеток (ИЛ-4 и ИЛ-6). Тх2 непосредственно взаимодействуют с В-лимфоцитами, активируя их. Сходную функцию выполняют *фолликулярные хелперные клетки*, которые стимулируют превращение В-клеток в *долгоживущие плазмоциты*, синтезирующие антитела.

Против вирусов и некоторых внутриклеточных бактерий (хламидии, риккетсии), поражающих эпителий ротовой полости, иммунитет развивается иначе. Антиген, экспрессированный на мембране пораженной клетки, активирует $CD8^+$ Т-лимфоциты, которые имеют к нему соответствующий ТКР. Причем $CD8^+$ Т-лимфоцит узнает такой антиген лишь в комплексе с молекулами HLA I класса, которые есть на всех ядродержащих клетках организма. После контакта с этим комплексом $CD8^+$ Т-клетки активируются, делятся, возникают зрелые цитотоксические Т-клетки (*Т-киллеры*), а также клетки памяти. Цитотоксические Т-лимфоциты лизируют клетки, несущие вирусный или другой антиген на поверхности, выделяя цитотоксический белок *перфорин* и ферменты гидролазы (*гранзимы*). Кроме того, они начинают экспрессировать на своей поверхности *Fas-лиганд*, который, взаимодействуя с CD95 на

поверхности клеток-мишеней, вызывает их *апоптоз*. Помимо этого, они выделяют гамма-интерферон, который препятствует репликации вирусов, а также активирует *естественные киллеры*, которые разрушают инфицированные вирусом клетки.

Все вышеперечисленные факторы позволяют эффективно элиминировать большинство сложных антигенов, включая вирусы и бактерии. Однако при высокой дозе возбудителя, первичных или вторичных иммунодефицитах, механизмы защиты становятся менее эффективными, и в полости рта могут развиваться патологические процессы.

ГЛАВА 7. ИММУНИТЕТ И ИНФЕКЦИИ

Сложность и многогранность иммунных реакций позволяет системе иммунитета эффективно выполнять свою главную функцию – защиту макроорганизма от патогенных возбудителей (противоинфекционный иммунитет) и от собственных измененных клеток («иммунологический надзор»).

Инфекционные болезни – это обширная группа заболеваний человека, вызываемых патогенными бактериями, вирусами, грибами и простейшими. Возбудители инфекционных заболеваний по-прежнему занимают важнейшее место в патологии человека, а инфекционные болезни остаются одной из ведущих причин смертности, особенно в развивающихся странах.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2016 г.) среди 10 основных причин смертности значительное место занимают инфекции нижних дыхательных путей (свыше 3 млн случаев в год), диарейные инфекции (1,4 млн), туберкулез (1,3 млн). Несмотря на достигнутые успехи в лечении, сохраняется высокая смертность от ВИЧ-инфекции (ежегодно – около 1 млн случаев), от малярии и других трансмиссивных инфекций (свыше 700 тыс. случаев в год).

Среди ведущих проблем общественного здравоохранения 2019 г. ВОЗ выделяет угрозу возможной глобальной пандемии гриппа, повсеместный рост устойчивости возбудителей к антимикробным препаратам, возникновение и распространение особо опасных вирусных инфекций, таких как лихорадка Эбола и другие геморрагические лихорадки, вирусные инфекции Зика и Нипах, инфекции коронавирусами ближневосточного респираторного синдрома (БВРС) и тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС).

При достаточном иммунном ответе взаимодействие между микро- и макроорганизмом не оставляет последствий, при неэффективности иммунных реакций развивается широкий спектр проявлений инфекционного процесса – от манифестной формы инфекционного заболевания, до латентной инфекции и бессимптомного микробного носительства.

Тем самым главной стратегией борьбы с инфекциями в 21-м веке по-прежнему остается **иммунопрофилактическое направление** –

повышение популяционной и индивидуальной резистентности к инфекциям у людей.

Каждый из видов противоинфекционного иммунитета (антибактериальный и анитоксический, противовирусный, противогрибковый и антипаразитарный) имеет свои особенности. Однако все они базируются на совместных реакциях врожденного и приобретенного иммунитета, взаимодействии их клеточных и гуморальных звеньев.

Антибактериальный иммунитет

Факторы, определяющие форму и тяжесть течения бактериальной инфекции, зависят от вирулентности микроорганизма, его антибиотикоустойчивости и от состояния макроорганизма (уровень специфического и неспецифического иммунитета, возраст человека, наличие сопутствующей патологии и т.д.).

Исходным препятствием на пути бактериальных возбудителей становятся факторы и структуры *неспецифической резистентности*, и местной защиты, препятствующие адгезии, колонизации, пенетрации и инвазии микроорганизмов. Параллельно активируются клеточные и гуморальные факторы *врожденного иммунитета*. В большинстве случаев этого бывает достаточно, чтобы предотвратить дальнейшее развитие инфекционного процесса.

Особенности врожденного антибактериального иммунитета

Возбудители заболеваний обычно проникают в организм через слизистые оболочки носа, дыхательных путей, глаз, мочеполовых путей и кишечного тракта. Реже это происходит через кожу, обычно при ее повреждениях.

Неповрежденные кожа и слизистые оболочки непреодолимы для многих микроорганизмов (*барьерная функция*). Выделения желез кожи и слизистых обладают значительными бактерицидными свойствами за счет содержащихся в них лизоцима и других гидролитических ферментов, pH среды и др.

Нормальная бактериальная флора слизистых оболочек, особенно кишечника, также препятствует развитию патогенных микроорганизмов (*колонизационная резистентность*).

В свою очередь, включение механизмов естественного врожденного иммунитета может приводить к полной элиминации возбудителей даже без дальнейшего участия специфического иммунного ответа.

Ведущую роль здесь играет **фагоцитоз** микробных клеток **нейтрофилами** и макрофагами. Мощным фактором хемотаксиса для фагоцитов являются компоненты клеточной стенки микроба.

Связывание фагоцитов с бактериальными клетками происходит через систему Toll-like рецепторов, комплекс лектиновых рецепторов макрофага, взаимодействующих с полисахаридами клеточной стенки бактерий микроба, а также в результате процессов опсонизации микробов антителами и компонентами комплемента.

Фагоциты поглощают микробные клетки, далее активируется **дыхательный взрыв** и происходит переваривание бактерий.

Активированные макрофаги выделяют комплекс провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО, гамма-интерферон), которые стимулируют преимущественно **Tx1** с развитием **воспаления**.

Этот процесс может многократно усиливаться вследствие связывания ЛПС бактерий с CD14 рецептором макрофага и TLR-4. При этом массивный выброс провоспалительных цитокинов вызывает лихорадку и может приводить к эндотоксическому шоку.

γδ-T-клетки, представляющие врожденный клеточный иммунитет, поддерживают резистентность к внутриклеточным устойчивым бактериям, таким как *M. tuberculosis*.

Одновременно в ходе иммунного ответа активируются факторы **гуморального врожденного иммунитета**.

Белки острой фазы воспаления (С-реактивный белок, фибронектин, гаптоглобин, альфа2-макроглобулин и др.) связываются с микробной клеткой, препятствуя распространению бактерий. Кроме того, С-реактивный белок **активирует комплемент по лектиновому пути** с последующим лизисом микробной клетки.

Естественные антитела классов IgM и sIgA от субпопуляции В-1-лимфоцитов, локализованных в слизистых, выполняют защитные функции, в первую очередь, против кишечных бактерий, а также капсулообразующих микробов (пневмококков, гемофильной палочки, клебсиелл и других). IgM-антитела **активируют комплемент по классическому пути**, оказывают комплементзависимую цитотоксичность, а sIgA **опсонизируют** до 90% бактерий тонкого кишечника, препятствуя их адгезии к эпителию. Эти антитела

исходно специфичны к распространенным антигенам бактерий: фосфорилхолин, полисахаридам и ЛПС.

Параллельно с этим происходит **активация комплемента по альтернативному пути** через С3-компонент. В итоге происходит лизис микробной клетки с образованием множества антигенных фрагментов. Другие биологически активные компоненты комплемента (С3b, С3a, С5a) **усиливают хемотаксис** лейкоцитов и способствуют **опсонизации** бактерий.

Факторы естественного иммунитета служат первой линией защиты от инфекций; при их недостаточности включаются механизмы адаптивного (приобретенного) иммунитета.

Особенности приобретенного антибактериального иммунитета

Специфический приобретенный (адаптивный) иммунный ответ направлен против всего комплекса антигенов возбудителя, включая его токсины и другие продукты жизнедеятельности.

Многие реакции противобактериального иммунитета связаны с микробными **T-независимыми антигенами**. Капсулярные полисахариды бактерий, липополисахарид (ЛПС) и бактериальные нуклеопротеины активируют В-лимфоциты и продукцию АТ класса IgM без участия Т-клеток. Такие АТ активируют комплемент и участвуют в опсонизации бактерий.

Приобретенный антибактериальный иммунитет, особенно с антителами против полисахаридных антигенов, как правило, является **типоспецифическим** и нестойким. Этим объясняются частые случаи повторных заболеваний бактериальными инфекциями.

Приобретенный **T-зависимый иммунный ответ** на возбудителей, поступающих извне (**экзоАГ**), и на возбудителей, находящихся внутриклеточно (**эндоАГ**), развивается по разным иммунологическим механизмам.

В ходе инфекционного процесса бактерии проникают в организм из окружающей среды. Исходно большинство из них располагается внеклеточно. При этом бактериальные клетки поглощаются АПК (макрофагами и дендритными клетками) уже в местах первичного внедрения. После захвата АПК бактериальные белковые **экзоАГ** подвергаются протеолизу в **эндосоме** (фагосоме). Образуются антигенные пептиды, которые связываются с молекулами **HLA класса II** и презентуются **CD4+ Т-хелперам**.

Фолликулярные дендритные клетки представляют экзоАГ В-лимфоцитам в неизмененном виде. В свою очередь, В-лимфоциты выполняют процессинг этих АГ и представляют их далее Т-хелперам.

После активации образуются различные субпопуляции Т-хелперов со своим набором специфических цитокинов. От вида Т-хелперов зависят дальнейшие **эффекторные** реакции антибактериального иммунитета.

Tx1 через выделение **γ -интерферона** стимулируют **макрофаги** и **фагоцитоз** с развитием **клеточного воспаления**. Секреция ИЛ-2 Т-хелперами 1 типа вовлекает в активацию другие популяции Т- и В-лимфоцитов. Выделение макрофагами ИЛ-12 и ИЛ-18 усиливает воспаление.

Tx2 выделяют **ИЛ-4** и активируют **В-клетки** и **антителогенез** с образованием АТ всех классов.

Активированные **Tx17** продуцируют ИЛ-17, ИЛ-21 и ИЛ-22, которые стимулируют **воспаление**, нейтрофильный **фагоцитоз** и **синтез антител**.

T_{ФХ} активируют превращение фолликулярных **В-лимфоцитов** в **долгоживущие плазматические клетки**, секретирующие антитела, и в **В-лимфоциты памяти**.

В ходе иммунного ответа на бактериальных **внутриклеточных возбудителей** (микобактерии, риккетсии, хламидии и др.) процессинг **эндоАГ** происходит в цитоплазме зараженных клеток, а их презентация осуществляется в комплексе с молекулами **HLA I класса**. В результате активируются **CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты** (**Т-киллеры**), которые разрушают инфицированные клетки.

Аналогичную роль в удалении внутриклеточных патогенов играют естественные киллеры (ЕК-клетки).

Презентация эндоАГ дендритными клетками стимулирует образование Tx1 и **фагоцитоз**.

Внутриклеточно паразитирующие бактерии: микобактерии туберкулеза, бруцеллы, риккетсии, хламидии, сальмонеллы и др., отличаются повышенной устойчивостью к разрушению при фагоцитозе. Они защищаются от бактерицидных механизмов, подавляя слияние фагосом с лизосомами, образуя наружную оболочку, или выходя из фагосом в цитоплазму.

Фагоцитоз в этих случаях носит **незавершенный** характер, его эффективность снижена. В результате развивается **хроническое воспаление** по типу реакции гиперчувствительности замедленного

типа (**ГЧЗТ**), которое может сопровождаться повреждением тканей (*гранулематозное воспаление*).

При иммунном ответе на бактерии, продуцирующие высокоактивные **экзотоксины** (дифтерия, клостридиальная анаэробная инфекция, сибирская язва и др.), ведущая роль в иммунной защите принадлежит **антитоксическим антителам**, связывающим молекулы экзотоксинов.

После удаления возбудителей клоны эффекторных клеток ингибируются. Остаются долгоживущие клетки памяти, обеспечивающие длительный, а при отдельных инфекциях – пожизненный иммунитет.

При повторной встрече макроорганизм за счет даже небольшого фонового количества антител, а также способности быстрого размножения Т- и В-лимфоцитов с вовлечением клеток памяти способен нейтрализовать возбудителя. Феномен развития **иммунологической памяти** после первичной встречи с антигенами возбудителя служит основой приобретенного иммунитета, а феномен усиления иммунологической памяти после повторных встреч с антигенами используется при **ревакцинации** – повторном введении вакцин с целью поддержания напряженного иммунитета.

Итогом взаимодействия бактерий и макроорганизма может быть **стерильный иммунитет**, который поддерживается длительное время даже после полного удаления антигенов из организма или **нестерильный иммунитет**, который для своего поддержания требует присутствия возбудителя в остаточных количествах (например, при туберкулезе). При некоторых инфекциях адаптивный иммунитет не формируется (в частности, при гонорее из-за выраженной изменчивости возбудителя и его малой доступности для системы иммунитета).

Специфический иммунитет у части компактно проживающего населения (коллектива) составляет основу **коллективного иммунитета**: 80% иммунных людей достаточно для прекращения эпидемического распространения контагиозных инфекционных заболеваний. Однако в связи с тем, что не все вакцинированные отвечают достаточным иммунитетом, на практике для прекращения эпидемического процесса при различных инфекциях требуется прививать не менее 95% населения. Для объективного контроля за уровнем индивидуального и коллективного иммунитета определяют титры протективных антител в крови.

Особенности противовирусного иммунитета

Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, репродукция которых происходит только внутри зараженной клетки. Вне клетки вирус представляет собой инертную частицу (**вирион**), состоящую из нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), укрытой белковой оболочкой – капсидом, и в некоторых случаях – внешней липидной оболочкой суперкапсидом. Белки оболочек, локализованные в шипах вирусов, выполняют функцию рецепторов для связывания вириона с клеткой. При этом они проявляют выраженные антигенные свойства.

Своеобразие жизненного цикла вирусов определяет основные особенности противовирусного иммунитета.

Вирусы проникают в организм через покровные ткани, особенно имеющие повреждения (слизистые оболочки, кожу). Многие из них непосредственно поражают слизистый эпителий дыхательного и желудочно-кишечного трактов: риновирусы, коронавирусы, вирусы парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, ротавирусы. Другие, размножаясь в слизистых, затем быстро распространяются по крови, лимфе, нейронам (пикорнавирусы, вирусы кори, паротита, герпеса и др.). Возбудители трансмиссивных вирусных инфекций передаются с помощью переносчиков (комары, москиты, клещи) и попадают в кровь: альфавирусы, флавивирусы, буньявирусы и мн.др. Возбудители гемоконтактных инфекций (вирусы гепатита В и С) прямо поступают в кровь через поврежденную кожу и слизистые.

Противовирусный иммунитет – это невосприимчивость к патогенному вирусу, осуществляемое системой иммунитета. Однако кроме системы иммунитета, невосприимчивость к вирусной инфекции зависит от неиммунитетных факторов.

Врожденный иммунитет к вирусной инфекции

Резистентность к вирусам и противовирусный иммунитет зависят от комплекса причин и факторов. Существует генетически обусловленная устойчивость к отдельным вирусам у одних видов организмов в сравнении с другими видами. Человек не болеет чумой собак, а животные – корью, ВИЧ-инфекцией, гепатитом С и т.д. Часто подобная резистентность связана с *отсутствием* специфических клеточных рецепторов для вируса.

Кроме того, на пути проникновения вирусов в клетку возникают различные неспецифические барьеры и препятствия. Кожа служит защитным барьером против большинства вирусов. То же самое относится к слизистым оболочкам, где продуцируется слизь с вирулицидными и вируссвязывающими факторами. Ферменты слизи, кислая среда желудочно-кишечного сока, желчь разрушают оболочку многих вирусов. Вирусы могут удаляться из организма всеми возможными путями: почками с мочой, печенью с желчью, с секретами желез и слизистого эпителия.

С учетом особенностей вирусного метаболизма, на вирусы действует ряд *гуморальных* и *клеточных* факторов *врожденного иммунитета*.

Определенную роль в предупреждении связывания вирусов с клеточными рецепторами играют *естественные АТ* классов IgM и sIgA.

Ведущим фактором врожденного гуморального иммунитета против вирусов является система *интерферонов*. Основная противовирусная активность связана с действием *интерферонов I типа* (лейкоцитарный α - и фибробластный β -интерфероны), но также и с действием интерферонов II типа (*γ -интерферон*).

Интерфероны I типа переводят инфицированную клетку и здоровые клетки, ее окружающие, в *противовирусное состояние*.

После проникновения вируса его нуклеиновая кислота связывается с внутриклеточными образ-распознающими рецепторами (семейства TLR и другими), активируя синтез и выделение интерферонов. Молекулы интерферонов, действуя аутокринно и паракринно, связываются с рецепторами на клеточных мембранах и запускают синтез противовирусных белков.

Интерфероны I типа останавливают синтез белка в зараженных клетках и клеточное деление, а также стимулируют образование ферментов, разрушающих вирусные РНК (РНКазы L).

Гамма-интерферон усиливает синтез HLA-антигенов клетками, что приводит к ускорению процессов распознавания и процессинга антигенов, стимулирует естественные киллеры и фагоцитоз.

Ведущим звеном *клеточного* врожденного противовирусного иммунитета является активность естественных киллерных клеток (*ЕК-клеток*).

Одним из механизмов, позволяющим вирусам ускользать от действия системы иммунитета, является снижение экспрессии молекул HLA на мембранах зараженных клеток. Тем не менее, такие

клетки становятся мишенями для естественных киллеров и эффективно удаляются.

Однако главную роль в защите от вирусных инфекций, и особенно – в предупреждении повторных заражений, играют *гуморальные* и *клеточные* реакции **приобретенного иммунитета**.

Гуморальный приобретенный иммунитет к вирусам обеспечивается продукцией специфических **противовирусных АТ** классов IgM и особенно – **IgG** и **IgA**. Они препятствуют проникновению вирионов и блокируют их связывание с клеточными рецепторами. Также они связываются с вирусными АГ на мембранах инфицированных клеток и активируют их комплементзависимый цитолиз, а также стимулируют активность киллерных клеток.

Во многих случаях после инфекции или в результате проведенной вакцинации противовирусные АТ поддерживают стойкий иммунитет и обеспечивают невосприимчивость к повторному заражению вирусом (при кори, краснухе, эпидемическом паротите, вирусном гепатите В и других инфекциях). Их синтез обусловлен долгоживущими В-клетками памяти.

Основным звеном специфического противовирусного **клеточного иммунитета** являются **CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты** (**Т-киллеры**), которые распознают вирусные АГ в комплексе с молекулами **HLA I класса**. После распознавания вирусных АГ на мембранах они разрушают инфицированные клетки. Тем не менее, чрезмерная активность киллерных клеток может приводить к аутоиммунным поражениям внутренних органов и тканей, что наблюдается при вирусных гепатитах, тяжелом остром респираторном синдроме, вирусных менингоэнцефалитах.

Вирусы уклоняются от элиминации системой иммунитета, изменяя свои антигенные свойства. Например, у вируса гриппа точечные мутации вызывают малые изменения структуры белковых АГ (**антигенный дрейф**), а качественные изменения, приводящие к смене антигенной структуры вируса, обусловлены реассортацией (**рекомбинацией**) сегментов вирусного генома между различными подтипами вируса (**антигенный шифт**).

Результат иммунной реакции на внедрение вирусов может быть различным: уничтожение или инаktivация самого вируса без разрушения зараженных вирусом клеток; разрушение и элиминация модифицированных вирусом клеток хозяина с повреждением органов и тканей; элиминация вируса и повреждение органов и тканей; отсутствие иммунной реакции на латентную персистенцию вирусов.

Некоторые вирусы паразитируют непосредственно в клетках системы иммунитета, повреждая их и вызывая иммунодефицит не только в отношении самого вируса, но и к возбудителям других инфекций (цитомегаловирус, вирус иммунодефицита человека и др.).

Продолжительность активного противовирусного иммунитета составляет от нескольких месяцев до многих лет (пожизненно – к вирусам кори, полиомиелита, краснухи и некоторым другим). Она зависит от наличия долгоживущих субпопуляций Т- и В-клеток памяти.

Индукция вирусами иммунопатологии

Помимо антигенной изменчивости (как способа уклонения от факторов иммунитета) белки вирусов могут иметь общность строения с белками клеток организма (явление антигенной мимикрии), что мешает распознавать их чужеродность, а в случае иммунного ответа может приводить к аутоиммунным реакциям. Ряд белков, продуцируемых вирусами, имеют свойства цитокинов и вызывают иммуномодуляцию.

Вирусы блокируют процесс представления антигена молекулами HLA I и II классов, останавливают литическое действие ЕК и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Вирусы часто индуцируют *иммунодефициты* и *аллергию*. Угнетение иммунореактивности организма при острых вирусных инфекциях обычно транзиторно и наблюдается в течение 1-3 недель. Однако в некоторых случаях возникший иммунодефицит может сохраняться всю жизнь, особенно если он возник у плода или новорожденного. Вирусные инфекции обычно ассоциируются с дефектами Т-клеток (цитомегаловирусы, ВИЧ).

Развитие гиперчувствительности при вирусных инфекциях может приводить к возникновению аллергии (респираторно-синцитиальный вирус, пикорнавирусы) и аутоиммунных расстройств (вирусы краснухи, возбудители гепатитов В и С).

Вирусы индуцируют *иммунопатологические процессы*. Комплексы «вирусный антиген – антитело» повреждают сосуды, вызывая васкулиты, которые наблюдаются при многих вирусных инфекциях.

Противогрибковый иммунитет

Многочисленные антигены грибов содержатся в их спорах, клеточной стенке (полисахариды, гликопептиды) и цитоплазме.

Наружные слои клеточной стенки грибов содержат водорастворимые вещества, преимущественно гликопротеины и α -глюканы. Внутренние слои нерастворимы в воде, содержат хитин и β -глюканы.

Споры непатогенных и условно-патогенных грибов имеются в воздухе в большом количестве в течение года, но особенно в весенне-осенний период, и являются причиной респираторной аллергии (риниты, бронхиальная астма).

При каждой форме грибковых инфекций (*микозов*) имеются свои особенности реакций системы иммунитета. Однако, как правило, наблюдаются смешанные реакции.

Естественный врожденный иммунитет обеспечивается *нейтрофилами* и макрофагами за счет *фагоцитоза* и действия дефензинов и кислородзависимых механизмов цитолиза. Грибы могут запускать альтернативный путь активации комплемента.

Защитный эффект антител может проявляться в опсонизации клеток грибов для фагоцитоза. Отдельные представители грибов чувствительны к лизису системой комплемента.

Важную роль при грибковых инфекциях играют T_H1 и T_H17 , стимулирующие активность макрофагов и нейтрофилов. Альтернативная активация T_H2 может подавлять реакции клеточного иммунитета и способствовать развитию микозов.

Предрасположенность к грибковым инфекциям обусловлена в основном недостаточностью факторов клеточного иммунитета.

Условием для развития *оппортунистических микозов* (кандидоза, аспергиллеза и других) является *нейтропения* (значительное снижение числа нейтрофильных лейкоцитов). На фоне неэффективного фагоцитоза при нейтропении возбудителем микоза может стать практически любой грибковый патоген, способный выживать при температуре и кислотности внутренней среды человека.

Часть оппортунистических микозов являются ***ВИЧ-ассоциированными инфекциями*** и ***СПИД-индикаторными заболеваниями***: криптококкоз, некоторые формы кандидоза и аспергиллеза, пневмоцистная пневмония.

При значительном количестве возбудителей грибковая инфекция может развиваться и без иммунодефицита.

При микозах наблюдается развитие гиперчувствительности как немедленного, так и замедленного типа. У большинства пациентов регистрируются положительные кожные пробы на аллергены грибов, а также обнаруживаются алергенспецифические АТ класса IgE.

Иммунитет против простейших

Простейшие имеют множество различных антигенов и вызывают длительные инфекции. При протозойных инвазиях, когда возбудитель находится *в крови* (малярия, трипаносомозы), напряженность иммунитета определяют гуморальные факторы, а когда паразиты размножаются *в тканях* – клеточные.

Полостные паразиты, находящиеся на поверхности слизистой оболочки (энтамебы, гиардии, трихомонады) индуцируют иммунный ответ, однако он недостаточен для их элиминации, поскольку ограничен контакт между антигенами паразита и клетками системы иммунитета.

В целом при протозойных заболеваниях активируются все звенья как клеточного, так и гуморального иммунитета. Однако они далеко не всегда приводят к элиминации возбудителей. Часто наблюдается носительство, сопровождаемое иммунными и аллергическими реакциями. Усиливается синтез IgE, что может приводить к индуцируемому тучными клетками притоку эозинофилов к месту локализации возбудителей в очаг воспаления. Клетки простейших, покрытые IgG или IgE, уничтожаются прилипающими к ним эозинофилами и другими лейкоцитами (антителозависимая клеточная цитотоксичность – АЗКЦ).

Эозинофилы – основные *эффекторы противопаразитарного иммунитета*, в том числе иммунитета к гельминтам. С помощью низкоаффинных Fcε-рецепторов (FcεII или CD23) они прикрепляются к IgE-антителам, связанным с поверхностью гельминта, и дегранулируют. При этом выделяются множественные цитокины (интерлейкины 1, 3, 4, 5, 6, 8 и др.), главный основной белок эозинофилов, катионный белок эозинофилов, анионы супероксида, которые лизируют кутикулу гельминта.

Цитокины привлекают клетки, возникают клеточные инфильтраты по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с

накоплением эозинофилов, тучных клеток, нейтрофилов. Активируются T_H2 , выделяющие новую серию цитокинов и ферментов, что в итоге обеспечивает разрушение паразита. Его могут уничтожить макрофаги, если будут активированы цитокинами, которые продуцируют Т-лимфоциты. Для изгнания гельминтов из кишечника требуется совместное действие как антител, так и стимулированных цитокинами бокаловидных клеток, выделяющих муцин.

Против простейших, паразитирующих *внутриклеточно*, основную защиту обеспечивают T_H1 , выделяющие γ -интерферон и активирующие макрофаги, а также цитотоксические CD8(+) Т лимфоциты.

Однако в целом многие паразиты, хотя и вызывают иммунный ответ, довольно резистентны к его эффекторным механизмам, и могут долго персистировать в организме.

ГЛАВА 8.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ.

АЛЛЕРГИЯ И АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.

ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

Иммунопатология – определение, виды

Иммунопатология включает заболевания, в основе которых лежат нарушения в системе иммунитета.

Различают *3 основных вида иммунопатологии*:

1. болезни, связанные с гиперактивностью системы иммунитета (*аллергия и аутоиммунные заболевания*);
2. заболевания, обусловленные угнетением иммунитета (*первичные и вторичные иммунодефициты*);
3. болезни, связанные с нарушением пролиферации клеток системы иммунитета (*лимфомы*, острые и хронические *лимфо- и миелолейкозы*, парапротеинемические лейкозы – *миеломная болезнь* (плазмоцитомы), макроглобулинемия Вальденстрема и ряд других).

Последний вид патологических состояний связан с опухолевой прогрессией клеток системы иммунитета и является предметом изучения онкогематологии.

Виды гиперчувствительности

Аллергические и аутоиммунные заболевания развиваются на основе механизмов гиперчувствительности.

Гиперчувствительность (или *повышенная чувствительность*) – это избыточная, чрезмерная реакция системы иммунитета на поступивший антиген или аллерген, которая ведет к повреждению тканей.

В зависимости от времени наступления различают гиперчувствительность *немедленного* и *замедленного* типов (*ГЧНТ* и *ГЧЗТ*, соответственно).

Реакции *гиперчувствительности немедленного типа* развиваются быстро: от нескольких секунд (анафилактический шок)

до нескольких часов, а чаще всего через 30 минут после контакта с антигеном (аллергеном).

Реакции, развивающиеся через 4-16 часов после контакта с аллергеном, называют *отсроченными*, «поздними».

Немедленный тип гиперчувствительности во многом зависит от *гуморального* иммунного ответа с последующим *синтезом антител* различных классов. Ведущую роль здесь играют Т-хелперы 2 типа, которые продуцируют *ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10* и другие интерлейкины, стимулирующие В-лимфоциты и антителогенез. Под влиянием *ИЛ-4* происходит переключение синтеза АТ с класса IgM на другие классы иммуноглобулинов, включая аллергенспецифический IgE.

Гиперчувствительность замедленного типа проявляется через 24-72 ч после стимуляции антигеном или вллергеном. В ее основе лежат реакции *клеточного иммунитета*. ГЧЗТ поддерживается взаимодействием антигенспецифических Т-клеток, дендритных клеток и фагоцитов. Клеточный вариант гиперчувствительности связан с активностью *Tx1*, выделяющих *гамма-интерферон* и стимулирующих цитотоксические лимфоциты и *макрофаги*, а также *Tx17*, активирующих *нейтрофилы*.

Британские иммунологи *Ф.Дж. Гелл* и *Р. Кумбс* в 1963 г. предложили *классификацию реакций гиперчувствительности*, которая стала общепринятой.

Классификация основана на *различных* иммунопатологических *механизмах*, определяющих вариант (или по Геллу и Кумбсу – *тип*) гиперчувствительности. По всем этим механизмам могут развиваться как аллергические, так и аутоиммунные заболевания. Исходно Гелл и Кумбс установили 4 типа иммунопатологических реакций, отдельные исследователи выделяют 5 преобладающих типов.

Классификация иммунопатологических реакций (типы гиперчувствительности по Геллу и Кумбсу)

Различают следующие типы гиперчувствительности:

- *анафилактический (тип I)*;
- *цитотоксический (тип II)*;
- *иммунокомплексный (тип III)*;
- *клеточно-опосредованный (тип IV)*;
- *антирецепторный (тип V)*.

Анафилактические, цитотоксические, иммунокомплексные и антирецепторные реакции (*типы I, II, III, V*) основаны на механизмах **гиперчувствительности немедленного типа** с участием антител.

Клеточно-опосредованный *IV тип* реакций совпадает с **гиперчувствительностью замедленного типа**, где доминируют механизмы клеточного иммунитета.

I тип – анафилактические реакции

По первому типу гиперчувствительности развивается большинство **аллергических заболеваний** (анафилактический шок, атопическая бронхиальная астма, крапивница, ангионевротический отек, поллиноз или аллергия на пыльцу растений, аллергический ринит, инсектная аллергия (на укусы насекомых), пищевая аллергия и др.).

С другой стороны, анафилактические реакции не играют значимой роли в патогенезе аутоиммунных заболеваний.

Аллергия – определение, условия развития, стадии

Термин «**аллергия**» (греч. *allos* – другой, *ergon* – действие) применил в 1906 г. К. Пирке, который обозначил этим понятием приобретенное изменение специфической реакции организма на антигены. Близким этому является понятие «**атопия**» (греч. «*atopos*» – отклоняющийся от нормы, необычный), которое ввели А. Кока и Р. Кук (1923 г.) для обозначения наследственных клинических форм повышенной чувствительности, обусловленной особыми «**реагинами**» – непреципитирующими и неагглютинирующими антителами.

П. Портье и Ш. Рише в 1902 г. описали феномен, названный «**анафилаксией**», который наблюдался после повторных инъекций собакам чужеродных белков щупалец морских актиний, что приводило их к гибели (клиника анафилактического шока).

В настоящее время известно, что все перечисленные феномены отражают одно явление – аллергию на антигены.

Аллергия – это **специфическая повышенная вторичная иммунная реакция на антиген-аллерген, которая сопровождается повреждением тканей** и дисфункцией органов.

Аллергены – это антигены или гаптены, которые при **повторном** проникновении в сенсibilизированный организм вызывают аллергическую реакцию.

Различают **неинфекционные** и **инфекционные** аллергены.

К **неинфекционным** относятся компоненты растений (пыльца – пыльцевая аллергия, плоды – пищевая аллергия); животных и птиц – пищевые аллергены (молоко, яйцо), эпидермальные (шерсть, перо); бытовые аллергены – домашняя пыль (постельные клещи – дерматофагоиды, библиотечная пыль, шерсть домашних животных, синтетические изделия и др.); лекарственные и медикаментозные – практически все лекарства и медикаменты; аллергены насекомых (яды и др.); профессиональные – различные химические вещества (в том числе синтетические изделия), лаки, краски, неорганическая и органическая пыль, аэрозоли веществ.

Аллергены вызывают аллергию, присутствуя **в очень низких концентрациях** (ниже предельно допустимых концентраций вредных соединений в окружающей среде). Суммарная доза аллергенной пыльцы, полученной больным за период цветения растения, может составлять всего 1 мкг.

Инфекционными аллергенами могут служить самые разные антигены бактерий, грибов, вирусов и паразитов.

Специфичность анафилактической аллергической реакции зависит от появления в организме **аллергоспецифических антител** (обычно **иммуноглобулинов класса E**). Они возникают после первого контакта с аллергеном, и уровень их увеличивается при новых контактах. IgE-АТ называют еще **цитотфильными антителами**, так как они связываются со специфическими рецепторами на поверхности, базофилов, тучных клеток, эозинофилов и активируют данные типы клеток.

Наследственная генетическая предрасположенность во многом определяет развитие аллергии на конкретный антиген. Гены, ответственные за аллергию, контролируют синтез ряда цитокинов, отдельных вариантов молекул HLA, Toll-like-рецепторов и факторов транскрипции, участвующих в аллергических реакциях. У лиц с аллергией экспрессия «проаллергических» генов повышена, что приводит к предрасположенности к аллергическим болезням. Однако

наследование данных признаков носит полигенный характер, подвержено интенсивной эпигенетической регуляции и реализуется через сложные взаимоотношения с окружающей средой.

Развитие всех аллергических реакций начинается с *периода сенсibilизации*.

Период сенсibilизации – это время от момента *первичного контакта* с аллергеном до его *повторного поступления* с возникновением аллергической реакции.

Период сенсibilизации длится от нескольких дней (обычно не менее 7) до нескольких месяцев или даже лет. В этот период активируются иммунологические механизмы, приводящие впоследствии к аллергической реакции.

После повторного проникновения специфического аллергена в сенсibilизированный организм развивается аллергическая реакция, которая проходит через несколько последовательных *стадий*:

- **иммунологическую** (взаимодействие с аллергеном специфических антител и/или сенсibilизированных лимфоцитов);
- **патохимическую** или медиаторную (выделение медиаторов аллергии);
- **патофизиологическую** (нарушение функций тканей и органов);
- **клинических проявлений** (появление симптомов аллергии с развитием клинической картины заболеваний).

Механизмы анафилактических реакций I типа

Период сенсibilизации при анафилактических реакциях имеет свои особенности. После первого контакта с аллергеном у чувствительных лиц активируются механизмы, приводящие в итоге к образованию *реагинов* – **аллергенспецифических антител класса IgE** (или реже – подкласса IgG4). Для сравнения – в норме у людей без атопии (т.е., не имеющих предрасположенности к аллергии), тот же самый антиген стимулирует образование АТ класса IgG (обычно IgG1) или IgA.

Период сенсibilизации клинически не проявляется. Первоначально происходит активация аллергенспецифических Т-лимфоцитов. Основную роль среди них играют **Т-хелперы 2 типа** и фолликулярные хелперные клетки. **T_H2** активируют аллергенспецифические В-лимфоциты при непосредственном контакте, а также путем секреции интерлейкинов **ИЛ-4, 5, 9, 13** и 15.

В активированных В-лимфоцитах происходит переключение синтеза специфических антител на класс IgE. Образуются долгоживущие клоны плазмочитов, секретирующие IgE-АТ, а также В-клетки памяти.

Секреция провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-12 и гамма-интерферона макрофагами и Тх1 ингибирует аллергические реакции. Однако при аллергии Тх2 через ИЛ-4 запускают альтернативную активацию макрофагов с продукцией ими **ИЛ-10** и подавлением синтеза воспалительных цитокинов. Кроме того, при аллергии страдает функция регуляторных клеток *Трег*, контролирующих нормальный уровень иммунных реакций.

После секреции плазмочитами аллергенспецифические IgE взаимодействуют в кровотоке и тканях с **базофилами** и **тучными клетками**. На мембранах этих клеток имеются **FcεRI** – высокоаффинные **рецепторы для связывания IgE**. К ним присоединяются циркулирующие молекулы IgE.

Концентрация IgE у здорового человека в сыворотке крови крайне вариабельна и изменяется в пределах от 0 до 100 МЕ/мл (1 МЕ эквивалентна 2,4 нг IgE). При аллергических реакциях и гельминтозах количество общего IgE в сыворотке крови обычно увеличивается (при глистных инвазиях может достигать 1000 МЕ/мл и более).

Свыше 90% синтезированного в организме IgE секретируется через эпителий слизистых оболочек и удаляется со слезью.

Однако в периоде сенсибилизации адсорбированные на базофилах, тучных клетках и эозинофилах молекулы IgE длительное время сохраняют свою активность.

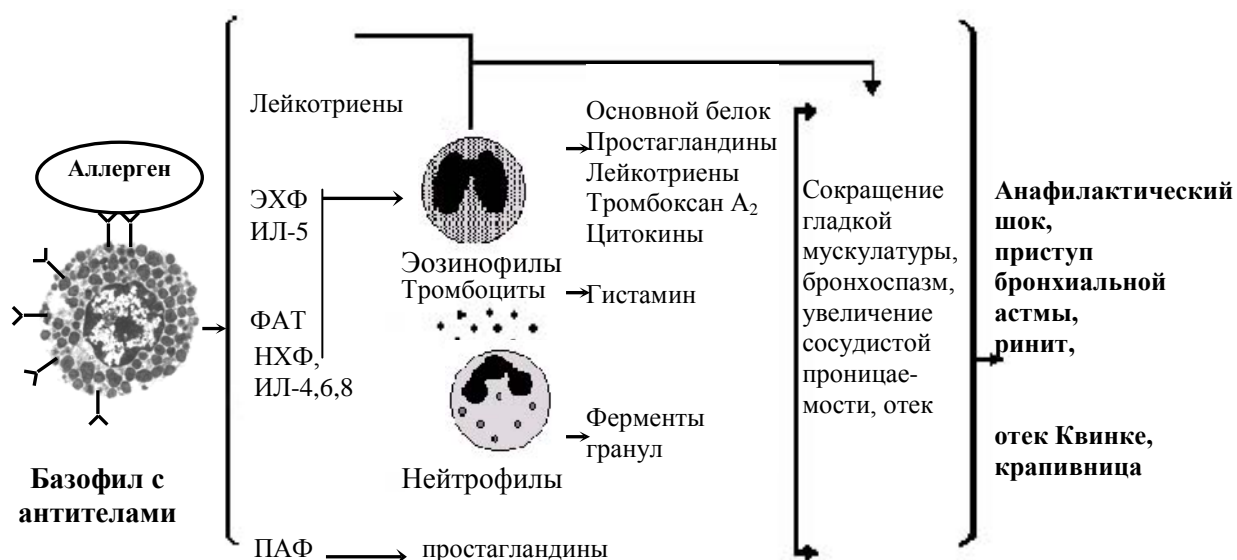
Развитию аллергии способствуют вирусные инфекции, химические загрязнители окружающей среды, курение – факторы, усиливающие гиперреактивность клеток системы иммунитета.

При повторном контакте аллерген взаимодействует с находящимися на клетках антителами класса IgE и запускает аллергическую реакцию (рис. 8.1.).

В иммунологическую стадию аллерген после взаимодействия с IgE стимулирует базофилы и тучные клетки. Это происходит из-за перекрестного связывания молекулой аллергена не менее двух молекул IgE-АТ, адсорбированных на мембранных Fcε-рецепторах.

Такое взаимодействие индуцирует трансмембранный сигнал, который уже в течение минуты активирует базофил. При этом внутриклеточные тирозинкиназы фосфорилируют регуляторные

белки и активируют цитоскелет, что приводит к дегрануляции базофилов и выделению медиаторов аллергии.



ЭХФ – эозинофильный хемотаксический фактор;
 ФАТ – фактор активации тромбоцитов; НХФ – нейтрофил-активирующий фактор;
 ПАФ – простагландин-активирующий фактор; ИЛ-4, 5, 6, 8-интерлейкины.

Рис. 8.1. Анафилактический тип аллергической реакции

С выделением медиаторов наступает **патохимическая стадия** аллергии. Гранулы базофила передвигаются по направлению к периферии клетки и покидают ее через поры мембраны. Процесс дегрануляции не сопровождается разрушением мембраны, и базофил сохраняет свою жизнеспособность.

Происходит немедленное высвобождение **первичных медиаторов** аллергии, находящихся в гранулах. К ним относятся **гистамин, серотонин, фактор активации тромбоцитов (ФАТ)**, специфические протеазы тучных клеток – **триптаза** и **химаза** и некоторые другие.

В то же время другая часть медиаторов начинает синтезироваться *de novo*. Основными из них являются метаболиты арахидоновой кислоты, возникающие под действием фосфолипазы A₂.

Метаболиты арахидоната образуются циклооксигеназным и липоксигеназным путями. Первый путь приводит к образованию

простагландинов и *тромбоксанов*. Наиболее активными стимуляторами аллергии являются простагландины $F_{2\alpha}$, D_2 и тромбоксан A_2 . В отличие от них, простагландин E_2 подавляет аллергические реакции.

Липоксигеназный путь более длительный. Он обеспечивает синтез и высвобождение наиболее мощных медиаторов аллергии – *лейкотриенов* B_4 , C_4 , D_4 .

Параллельно из гранул выделяются различные цитокины и хемоаттрактанты (*ИЛ-5*, а также ИЛ-4, 6, 8, *эозинофильный* и нейтрофильный хемотаксические факторы и т.д.). На поздней стадии реакции в зоне аллергии накапливаются *эозинофилы*, нейтрофилы, макрофаги и другие клетки. Важным этапом является их прилипание к эндотелию и последующая экстравазкулярная миграция. Этому предшествует усиление экспрессии молекул адгезии на лейкоцитах и эндотелии.

Эозинофилы и другие лейкоциты являются источником дополнительных вторичных медиаторов аллергии с очень высокой активностью. К ним относятся *брадикинин* и калликреин, *гепарин*, *анафилатоксины* $C3a$ и $C5a$ – компоненты комплемента и многие другие.

Выделившиеся медиаторы вызывают дисфункцию тканей и органов – *патофизиологическая стадия*. Развивается *гиперемия* и *отек* тканей, появляется кожный зуд; железистые клетки обильно выделяют вязкий секрет (*гиперкриния*); возникают *расстройства микроциркуляции*, *падает сосудистый тонус*, снижается артериальное давление, возникает тахикардия; с другой стороны, повышается тонус гладкой мускулатуры бронхов (*бронхиальная обструкция* и *бронхоспазм*).

Итогом реакций I типа является *стадия клинических проявлений*, которая может выражаться в виде анафилактического шока, приступа бронхиальной астмы, ринита, конъюнктивита, крапивницы и др.

Наиболее быстрой и тяжелой *жизнеугрожающей* реакцией на аллерген является *анафилактический шок*, который развивается в течение нескольких секунд или минут после поступления аллергена (укусы перепончатокрылых – ос, шершней, пчел или инъекции лекарств-аллергенов и т.д.). Ведущим клиническим синдромом при шоке является глубокое падение артериального давления (коллапс).

II тип – цитотоксические реакции. Аутоиммунные и аллергические заболевания, развивающиеся по II типу реакций

Цитотоксические реакции (II тип) возникают при взаимодействии антител класса IgG или IgM с антигеном или гаптеном, которые *связаны с мембраной клетки* (рис. 8.2).

Антигенами и аллергенами здесь могут быть *лекарственные средства*, химические вещества, бактериальные, вирусные антигены, сорбированные или связанные мембранами клеток, а также аутоантигены.

Так как антитела взаимодействуют с этими антигенами своими Fab-фрагментами, то их Fc-фрагменты **активируют систему комплемента** по классическому пути. В процессе активации комплемента образуется цитотоксический мембраноатакующий комплекс (**МАК**). МАК разрушает клетку-мишень и вызывает повреждение тканей.

Помимо комплементзависимых, существуют цитотоксические реакции с участием *клеток-эффекторов*. Лизис клетки, покрытой антителами, могут вызывать любые лейкоциты, которые несут соответствующий **Fc-рецептор** (естественные киллеры, макрофаги, нейтрофилы).

Fc-рецепторы связываются с Fc-фрагментами АТ на поверхности клетки-мишени и активируют цитотоксическую функцию лейкоцита (*антителозависимая клеточная цитотоксичность – АЗКЦ*).

Сходным образом лейкоциты разрушают клетки-мишени при их **опсонизации** компонентами комплемента (например, **C3b**) или лектинами.

II тип реакций доминирует при аутоиммунных заболеваниях крови. К ним относятся *аутоиммунная тромбоцитопения* (болезнь Верльгофа), *аутоиммунная гемолитическая анемия*, агранулоцитоз, апластическая анемия.

Аналогичные реакции наблюдаются при переливании несовместимой крови, резус-конflikте.

К заболеваниям с таким же механизмом относится *пузырчатка* – патология кожи с аутоантителами к молекулам межклеточной адгезии, и синдром Гудпасчера – аутоиммунное поражение базальной мембраны капилляров клубочков почек и альвеол.

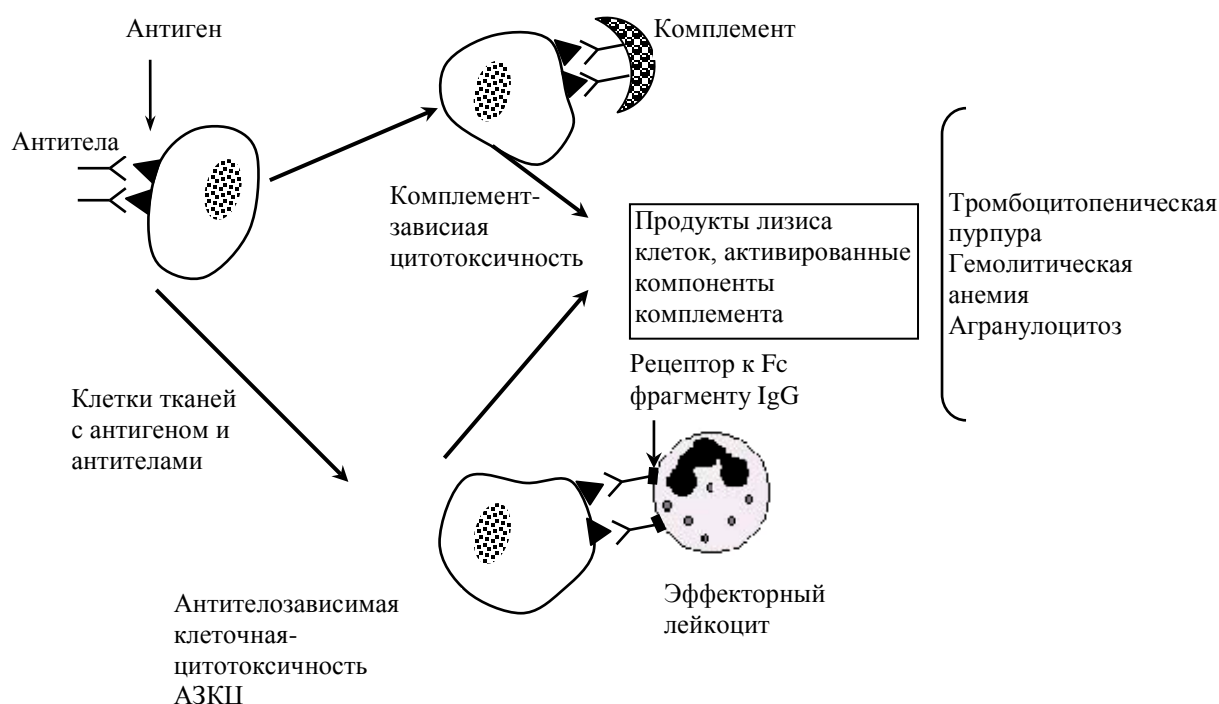


Рис. 8.2. Цитотоксические реакции

III тип – иммунокомплексные реакции. Аутоиммунные и аллергические заболевания, развивающиеся по III типу реакций

Образование иммунных комплексов (**ИК**) «**антиген-антитело**» – нормальная составляющая любого иммунного ответа.

В норме ИК захватываются макрофагами, или адсорбируются на эритроцитах и переносятся в селезенку и печень, где также фагоцитируются. Комплемент способствует их связыванию и растворению. Тем не менее, при аутоиммунных заболеваниях и инфекциях может появляться избыток иммунных комплексов с аномальными размерами.

Наибольшее патогенетическое значение имеют *растворимые иммунные комплексы* небольших размеров. Это происходит при недостаточной массе и валентности АГ, при низкой аффинности АТ и т.д. Фагоцитоз ИК нарушается, что затрудняет их элиминацию из организма.

Такие иммунные комплексы появляются и циркулируют в кровотоке. После некоторого периода циркуляции они оседают в тканях и органах, где прикрепляются к эндотелию капилляров.

Агрегаты комплексов «АГ-АТ» образуют отложения на базальной мембране сосудов микроциркуляции.

Адсорбированные на клеточных и мембранных структурах ИК способны запускать как классический, так и альтернативный путь активации системы комплемента. **Активация комплемента** приводит к системному воспалительному поражению сосудов (аутоиммунный **васкулит**). Компоненты комплемента обладают хемотаксическим действием, активируют миграцию клеток в очаги воспаления, что усугубляет патологический процесс. Ткани и органы с богатой капиллярной сети наиболее восприимчивы к иммуннокомплексному повреждению (почки, легкие, печень, кожа, сосуды ЦНС, синовиальная и соединительная ткань).

Примерами **аутоиммунных заболеваний**, протекающих преимущественно по III типу иммунопатологических реакций, является системная красная волчанка (СКВ) и ревматоидный артрит (РА).

При **СКВ** аутоантигеном становится собственная ДНК в комплексе с белками (**дезоксирибонуклеопротеин**). ИК при СКВ оседают во многих органах, но особенно поражаются почки, что приводит к тяжелейшему гломерулонефриту (волчаночный нефрит или «**люпус-нефрит**»).

При **РА** аутоАГ является *Fc-фрагмент собственных IgG*; к нему образуются аутоантитела, чаще всего – класса IgM, которые получили общее название «**ревматоидный фактор**» (**РФ**). Иммунные комплексы при РА оседают главным образом в суставных полостях, что приводит к тяжелому артриту.

Типичным примером **аллергических болезней** III типа является **сывороточная болезнь**, исходно наблюдавшаяся при многократном введении ксеногенных АТ при серотерапии инфекций. В частности, это происходило при лечении дифтерии или столбняка лошадиной антитоксической сывороткой, а также при лечении бешенства лошадиным антирабическим иммуноглобулином. Реакция сопровождалась лихорадкой, васкулитом с повреждением почек, крапивницей, болями в суставах (артралгиями).

Вышеприведенные случаи сывороточной болезни в настоящее время чрезвычайно редки. Единичные случаи подобных реакций могут возникать при массивной терапии антибиотиками, например, бета-лактаминового ряда, с образованием их комплексов с белками и продукцией аутоантител.

При экспериментальном неоднократном введении АГ лабораторным животным внутрикожно может наблюдаться гиперергическая реакция по иммунокомплексному типу (*феномен Артюса*). Патология проявляется геморрагическим васкулитом с некрозом.

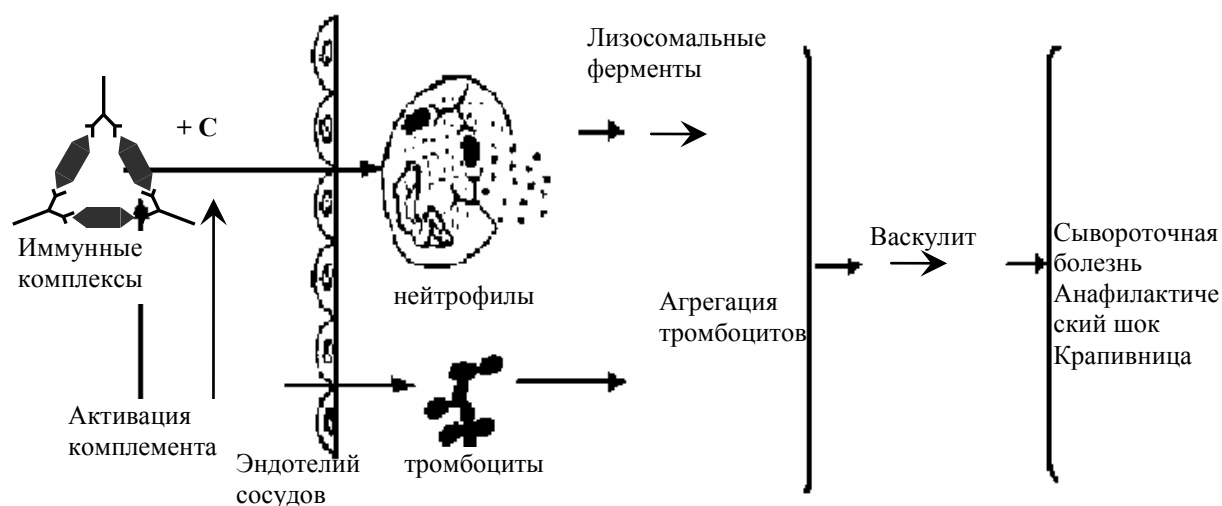


Рис. 8.3. Иммунокомплексные реакции

IV тип – клеточно-опосредованные реакции или гиперчувствительность замедленного типа. Заболевания, развивающиеся по IV типу реакций

Данная форма гиперчувствительности наблюдается при многих аллергических заболеваниях (*контактный дерматит*, аллергия на соединения металлов, аллергия на лекарственные средства и др.), при саркоидозе, различных инфекциях (*туберкулез*, проказа, бруцеллез, туляремия и др.), реакциях отторжения трансплантата. Компонент гиперчувствительности замедленного типа всегда присутствует при аутоиммунных заболеваниях.

Главную роль в развитии этой формы иммунопатологии играют Т-лимфоциты, несущие специфические рецепторы к антигену (*Т-хелперы 1 типа*, CD8⁺-цитотоксические лимфоциты или *Т-киллеры*), а также *макрофаги* и дендритные клетки.

Все события, от взаимодействия Т-клеток с антигеном, до образования клеточного инфильтрата, развиваются в течение длительного промежутка времени – 24-72 часа или более.

Tx1 распознают АГ после его процессинга в макрофагах и дендритных клетках и активируются. При этом они выделяют ИЛ-2, гамма-интерферон и лимфотоксины (β -ФНО). Цитокины Tx1, в первую очередь – **гамма-интерферон**, активируют макрофаги в воспалительном очаге. Макрофаги, в свою очередь, выделяют ИЛ-1, 12, 18, α -ФНО, факторы хемотаксиса, усугубляющие воспалительные реакции. Повреждение тканей развивается в результате продукции агрессивных метаболитов макрофагами и другими лейкоцитами (выделение гидролитических ферментов, активных форм кислорода и азота).

Выделение цитокинов может привести также к пролиферации и дифференцировке клеток-киллеров, что, в свою очередь, ведет к прямому повреждению тканей. Кроме того, CD8⁺ цитотоксические лимфоциты могут разрушать клетки, пораженные инфекционными агентами (вирусами, внутриклеточными бактериями).

Постепенно в очаге воспаления формируется клеточный инфильтрат с преобладанием макрофагов и других мононуклеаров. В центре инфильтрата часто развивается некроз, на его периферии усиливается активность фибробластов, образуется соединительная ткань. Очаг увеличивается в размерах и в течение 3-4 недель может сформироваться **гранулема**. Гранулематозное воспаление нарушает функцию пораженных органов.

Развитие гиперчувствительности замедленного типа при инфекциях во многом зависит от структуры бактериальных антигенов. Некоторые из них (например, компоненты микробной клеточной стенки) активируют преимущественно Tx1 и макрофаги, вызывая сенсibilизацию и инфекционную аллергию по механизмам ГЧЗТ. Такие инфекционные процессы характеризуются длительным периодом инкубации с нечеткими проявлениями.

Оценка гиперчувствительности замедленного типа проводится при широком ряде инфекций, в патогенезе которых активную роль играют клеточно-опосредованные иммунные реакции. К ним относятся туберкулез, проказа (лепра), бруцеллез, туляремия, актиномикоз, токсоплазмоз и некоторые другие.

Диагностика таких заболеваний проводится различными методами, включая постановку **кожных** (кожно-аллергических) **проб**.

Кожные пробы для оценки инфекционной аллергии – это лабораторные диагностические тесты, определяющие **наличие гиперчувствительности замедленного типа** к инфекционным антигенам (**аллергенам**). Аллергены, как правило, вводят **внутрикожно**.

Аллергены для кожно-аллергических проб **получают** путем выращивания микроорганизмов на жидкой питательной среде с последующей фильтрацией и очисткой.

Для диагностики туберкулеза одним из ведущих методов является кожно-аллергический тест с **туберкулином** (**проба Манту**), который выявляет наличие сенсибилизации к микобактериям туберкулеза (и, следовательно – возможное заражение или активацию заболевания).

Туберкулин был впервые получен Р. Кохом в 1890 г. путем фильтрации культуры микобактерий туберкулеза после их длительного выращивания в жидкой питательной среде. Первоначально он применялся для лечения туберкулеза, но без успеха. Тем не менее, впоследствии было показано, что препарат следует использовать для диагностики туберкулёза. Он был очищен дополнительно с получением белковых фракций (**туберкулин PPD** или очищенный белковый дериват – англ. *purified protein derivative*).

При выполнении **пробы Манту** внутрикожно во внутреннюю поверхность предплечья вводят 2 единицы **туберкулина PPD**. Если организм инфицирован, то в месте введения появляется инфильтрация и гиперемия, т.е. развивается ГЧЗТ.

Проба Манту оценивается через 72 часа. Результат считают положительным при наличии инфильтрата (папулы) с диаметром равным или свыше 5 мм. Однако положительная реакция наблюдается не у всех инфицированных лиц. У пациентов с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом проба Манту также может быть отрицательной.

Более современным вариантом кожно-аллергической пробы при туберкулезе является **Диаскин-тест**. При его проведении внутрикожно вводят рекомбинантные антигены – специфические белки *M. tuberculosis*. Оценка результатов сходна с пробой Манту. Диаскин-тест обладает высокой специфичностью, на результаты теста не влияет предшествующая противотуберкулезная вакцинация вакциной БЦЖ, поскольку вакцинный штамм *M. bovis* не содержит данных белков.

При лепре положительный кожный тест с аллергеном лепромином указывает на туберкулоидную форму заболевания с частично сохранным клеточным иммунитетом, тогда как отрицательный результат соответствует лепроматозной лепре с глубоким угнетением клеточных иммунных реакций.

Кожные пробы применяются в диагностике бруцеллеза (проба Бюрне с *бруцеллином*) и туляремии (тест с *тулярином*). Также они имеют диагностическую значимость при системных грибковых и некоторых протозойных инфекциях (гистоплазмоз, бластомикоз, токсоплазмоз и т.д.). Кроме того, ГЧЗТ развивается и при действии многих вирусов (простого герпеса, эпидемического паротита, энтеровирусов и др.).

Тип V – антирецепторные реакции. Аутоиммунные заболевания, развивающиеся по V типу реакций

В некоторых случаях в организме образуются *аутоантитела класса IgG*, реже IgM или IgA, *против биологически активных рецепторов собственных клеток*. Такие аутоАТ связываются с соответствующим рецептором и *изменяют функцию клеток* (усиливают или угнетают ее).

Ряд исследователей относит рецептор-опосредованные иммунопатологические реакции к особому виду реакций II типа (цитотоксическая гиперчувствительность). Однако, учитывая специфические механизмы и проявления стимулирующего или блокирующего действия аутоАТ на рецепторы и функцию клеток, представляется уместным выделение таких реакций в отдельный тип гиперчувствительности (*тип V*).

Классическим примером аутоиммунных расстройств подобного рода является *диффузный токсический зоб* (болезнь Грейвса, Базедова болезнь). В патогенезе данного заболевания ведущую роль играет аутоантитело – длительно действующий тиреостимулятор или *LATS-фактор* (от англ. *long acting thyroid stimulator*).

LATS-фактор – это *антитело к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ)* на клетках щитовидной железы. Такое АТ обладает стимулирующим воздействием на тироцит, вызывая гиперпродукцию тироксина и трийодтиронина. При этом нарушается нормальная регуляция выделения этих гормонов по принципу обратной связи. Клинически это проявляется симптомами тиреотоксикоза.

Противоположное явление – **блокада рецепторов** с нарушением взаимодействия клетки с гормонами или медиаторами – характерно для такого заболевания, как **тяжелая миастения** или *Myasthenia gravis*. В этом случае аутоантитела препятствуют передаче импульсов в пределах нервно-мышечного синапса. Данные АТ связываются с **рецептором ацетилхолина** на постсинаптической мышечной мембране (концевой пластинке), блокируя действие ацетилхолина. Блокада рецептора вызывает прогрессирующую мышечную слабость с неблагоприятным прогнозом заболевания.

Сходным образом аутоАТ могут ингибировать бета₂-адренорецепторы гладкой мускулатуры бронхов с развитием отдельных форм бронхиальной астмы.

Характеристика аллергических заболеваний

Основной чертой аллергических заболеваний (см. таблицу) является повышенная чувствительность к аллергенам экзогенного происхождения (неинфекционного либо инфекционного).

Отмечается повсеместный и неуклонный рост частоты аллергических заболеваний. Они встречаются у 25-45% людей. Им свойственны общие признаки и механизмы возникновения и развития:

- *генетическая наследственная предрасположенность* к атопическим реакциям у больного и кровных родственников;
- *наличие экзогенных индукторов-аллергенов*, исключение контакта с которыми (удаление, элиминация) обычно ведет к частичному или полному выздоровлению или ремиссии;
- *гиперергический характер* иммунных (немедленных или замедленных) реакций на аллергены;
- *возможность и эффективность аллергенспецифической иммунотерапии* – десенсибилизации или гипосенсибилизации организма введением экзогенных аллергенов.

Главным патогенетическим механизмом данной группы заболеваний является повышенная иммунологическая реактивность (гиперчувствительность), выражающаяся в гиперпродукции отдельных факторов системы иммунитета: антител определенных классов (чаще всего IgE), сенсibilизированных лимфоцитов, интерлейкинов и других медиаторов, выделяемых лейкоцитами.

Для аллергических заболеваний характерна *цикличность* течения: периоды относительной или полной ремиссии сменяются регулярными обострениями. Это во многих случаях обусловлено контактами с соответствующими индукторами заболевания – аллергенами.

Таблица. Виды аллергических заболеваний

Нозологическая форма или вид аллергии	Локализация воспалительных поражений органов и тканей	Основные индукторы (аллергены)
Бронхиальная астма:		
а) аллергическая	Легкие и бронхи	Домашняя и библиотечная пыль, шерсть собак, кошек
б) неаллергическая	Легкие и бронхи	Бактериальные, грибковые, вирусные компоненты, химические соединения
Аллергические ринит и конъюнктивит	Слизистые оболочки	Пыльца растений, домашняя пыль
Поллиноз (пыльцевая аллергия)	Слизистые оболочки носа, верхних дыхательных путей, конъюнктивы	Пыльца растений, домашняя пыль, клещи
Лекарственная аллергия	Кожа, слизистые оболочки, внутренние органы	Лекарственные вещества, медикаменты
Пищевая аллергия	Желудочно-кишечный тракт, печень, кожа, легкие и другие органы	Молоко, яйца, рыба и др., отдельные пищевые красители и консерванты
Анафилактический шок	Сердечно-сосудистая система и др.	Вакцины, сыворотки, пищевые аллергены, лекарства, яд пчел, ос
Крапивница и отек Квинке	Кожа, слизистые оболочки	Пищевые, лекарственные, химические вещества
Аллергические дерматиты	Кожа, слизистые оболочки	Бытовые химические вещества, лекарства
Инсектная аллергия	Общие и кожные реакции	Аллергены яда и тела насекомых
Сывороточная болезнь и сывороточноподобный синдром	Органы и ткани (сосуды, серозные оболочки, кожа)	Вакцины, сыворотки, лекарства

Для *диагностики* аллергических болезней используются клинические, инструментальные и лабораторные методы.

Выявляется связь между аллергеном и заболеванием. Так, поллиноз, сопровождаемый ринитом и конъюнктивитом, наблюдается весной и летом в период цветения деревьев и трав. Профессиональная

аллергия – при контакте с химическими веществами в процессе работы; пищевая – при употреблении пищи с аллергенами.

Проводят постановку *кожных проб* с предполагаемыми аллергенами, реакция на которые, если они причинные, будет положительной. Большинство реакций на *неинфекционные аллергены* проявляется как *гиперчувствительность немедленного типа* в течение 10-20 минут.

В сыворотке крови определяют *аллергенспецифические АТ* (обычно класса IgE).

Лечение отличается в период *ремиссии* и в период *обострения*. В острый период аллергического заболевания оно направлено на ликвидацию клинических проявлений, предотвращение прогрессирования процесса.

Уже в острый период имеет большое значение *элиминационная терапия* – удаление индуктора аллергической реакции с исключением контакта пациента с аллергеном. От полноты элиминации зависит как эффективность терапии в острый период, так и противорецидивная профилактика.

В период ремиссии аллергического заболевания основной задачей является предотвращение его рецидива, т.е. профилактика данного заболевания. Если аллерген нельзя исключить, проводят *аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ)* – пациенту по схеме вводят причинный аллерген, начиная с чрезвычайно низких концентраций и доз. Это приводит к подавлению синтеза антител-реагинов класса IgE с переключением на синтез специфических IgG, блокирующих аллергическую реакцию.

Псевдоаллергические реакции

Эти реакции *неспецифические*: здесь *отсутствует иммунологическая стадия* аллергии, нет антител и иммунных Т-клеток. Реакции включаются сразу с патохимической стадией. Они обусловлены выделением медиаторов из лейкоцитов (гистамина, серотонина, простагландинов, брадикинина и др.) под влиянием различных *неспецифических воздействий*: физических факторов (холод, физическая нагрузка), продуктов бактерий, их токсинов, химических и токсических веществ, психоэмоциональных факторов. Типичный пример этих реакций – *холодовая аллергия*. У людей с повышенной чувствительностью к этому фактору охлаждение

стимулирует гиперемию и отек кожи открытых участков тела. Выделившиеся медиаторы вызывают повреждение клеток и тканей такие же по клинике, как и аллергические заболевания.

Профессиональная аллергия провизоров и фармацевтов

Главная причина аллергических реакций на лекарства – *наследственная предрасположенность*. Поэтому лицам, у которых отягощен семейный аллергоанамнез (близкие родственники болеют бронхиальной астмой, имеют атопический дерматит, крапивницу и другие аллергические заболевания), нежелательно длительно контактировать с лекарствами. Если подобные аллергические заболевания есть у кандидатов в провизоры или фармацевты (студентов), то эта работа им противопоказана. Аллергические реакции под влиянием контакта с лекарствами, как правило, прогрессируют и приводят к тяжелым осложнениям. Любые лекарства могут быть аллергенами. Часто это антибиотики, прежде всего содержащие в своей структуре бета-лактамное кольцо (пенициллины и цефалоспорины). Однако аллергические реакции могут быть на сульфаниламиды, антигельминтные и противопротозойные средства и даже на антиаллергические препараты – антигистаминные и др. Нередко эти реакции развиваются на ферменты, вакцины и анатоксины. Широко распространена аллергия к *латексу*, который содержится в перчатках, катетерах и других изделиях. «Перчаточная» аллергия часто наблюдается у хирургов, акушеров-гинекологов в виде контактного дерматита кожи рук.

Клиника лекарственной аллергии очень разнообразна: сыпи на коже, крапивница, дерматиты, ринит (воспаление и отек слизистой оболочки носа), конъюнктивит (воспаление слизистой оболочки глаз), бронхиальная астма. При сильной аллергической реакции возможен анафилактический шок на вдыхание лекарств или на их инъекции.

При легких аллергических реакциях применяют *антигистаминные препараты* (лоратадин, цетиризин, фексофенадин, клемастин и др.), а при средней степени тяжести – *глюкокортикостероиды* (преднизолон или метипред парентерально). При *анафилактическом шоке* вводят подкожно раствор *адреналина* и *глюкокортикостероиды* внутривенно.

Профилактика профессиональной аллергии в фармации заключается в недопущении лиц, имеющих аллергию к лекарственным средствам, к контакту с ними в рабочих условиях аптек или фармацевтических производств. Одним из важных мероприятий здесь является ранняя диагностика и последующая профориентация лиц с аллергией или предрасположенностью к аллергии, предупреждающая их трудоустройство по специальностям, связанным с контактом с лекарственными средствами и другими химическими соединениями.

При появлении лекарственной аллергии у провизоров или фармацевтов необходимо изменение их условий труда с исключением контакта с лекарствами-аллергенами. Показано наблюдение у врача-аллерголога и проведение десенсибилизирующей противорецидивной терапии.

Взаимосвязь аллергии и инфекции

Инфекционный процесс неизбежно сопровождается реакциями гиперчувствительности немедленного и замедленного типа. Изменение реактивности в виде аллергии или неспецифической повышенной реактивности может предшествовать инфекции и видоизменять течение последней в начальной фазе ее развития. В других случаях организм сенсибилизируется в ходе самой инфекции, что приводит к возникновению последовательно развивающихся аллергических фаз заболевания.

Нередко отмечается отсутствие связи между гиперчувствительностью к антигенам микроба и напряженностью клеточного иммунитета, а также участие в этих феноменах разных субпопуляций Т-клеток. При аллергических заболеваниях снижается неспецифическая резистентность. В частности, отмечена в эксперименте и клинике связь аллергии к пневмококку с развитием тяжелых пневмоний. В основе развития гранулем при туберкулезе или бруцеллезе, и сыпей при различных инфекциях (кори, скарлатине, сифилисе, тифах и др.) также лежат замедленные или немедленные аллергические реакции. Активация цитокинового каскада как проявление гиперреактивности, является основой для развития сепсиса и инфекционно-токсического шока, причем уровень ФНО, ИЛ-1, ИЛ-12 и других провоспалительных цитокинов при них повышен.

Двойственный характер аллергических реакций при инфекции очевиден, и их полезность или вредность определяется конкретными условиями проявления и степенью их выраженности. Гиперергические реакции в большинстве случаев лишь частично способствуют элиминации возбудителя и превышают ту интенсивность, которая необходима для его инактивации.

Таким образом, аллергические реакции различного типа при инфекциях отражают иммунопатологические процессы, не всегда определяют антимикробную резистентность и нередко отягощают течение заболевания.

Аутоиммунные заболевания

Основой аутоиммунных заболеваний (АИЗ) служат повышенные иммунные реакции на молекулярные компоненты собственных тканей и органов, которые выступают в роли антигенов. Эти реакции возникают и поддерживаются путем нарушения распознавания «своих» молекул клетками системы иммунитета, поэтому АИЗ имеют длительное, хроническое течение.

Причины и механизмы развития АИЗ многообразны. По происхождению различают *первичные*, генетически обусловленные АИЗ и *вторичные*, возникшие в результате вирусных инфекций, воздействий лекарств и других факторов.

Аутоиммунные реакции развиваются по закономерностям, сходным с экзогенной аллергией и включают немедленные и замедленные реакции гиперчувствительности.

Из-за сходства механизмов ряд исследователей обозначает аутоиммунные реакции как аутоаллергические (по А.Д. Адо, 1978; E.Urbach, 1946).

У людей АИЗ ассоциированы с определенными HLA-гаплотипами, и нередко бывают семейными. В частности, при анкилозирующем спондилоартрите у пациентов часто встречается HLA-B27.

Накопление высокоспецифичных аутореактивных клонов Т- и В-лимфоцитов, обусловленное стимуляцией персистирующих аутоспецифических клеток, служит основой развития аутоиммунной патологии. Такие лимфоидные клетки предсуществуют в норме. Большая часть из них подвергается апоптозу в процессе созревания и

дифференцировки. Однако определенная их доля сохраняет аутоспецифичные рецепторы, например к АГ «забарьерных органов», в норме недоступных для системы иммунитета (щитовидная железа, тестикулярная ткань, компоненты ЦНС, хрусталик глаза и т.д.) При нарушении гистогематических барьеров эти структуры могут разрушаться аутореактивными лимфоцитами с развитием АИЗ.

Инфекционные агенты (вирусы, бактерии и их токсины) могут индуцировать аутоиммунные заболевания несколькими путями:

- повреждая клетки и вызывая выход «забарьерных» антигенов в лимфу и кровь;

- активируя Т- и В-лимфоциты, рецепторы которых перекрестно реагируют с клетками тканей и органов, несущих эпитопы, общие с инфекционными агентами (*антигенная мимикрия*)

- действуя как суперантигены, запуская поликлональную активацию лимфоцитов (характерно для многих экзотоксинов бактерий).

- вызывая стойкую иммуномодуляцию с подавлением супрессорной функции регуляторных Т-лимфоцитов, приводящую к неконтролируемой активации эффекторных лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток с выделением широкого спектра цитокинов и развитием хронического воспаления;

- активируя или подавляя апоптоз определенных субпопуляций клеток системы иммунитета и/или клеток-мишеней;

- нарушая регуляцию идиотип-антиидиотипической сети

- стимулируя образование В-лимфоцитами аутореактивных абзимов – антител с ферментативной активностью, повреждающих клеточные мембраны.

Общепринятой классификации аутоиммунных заболеваний пока не разработано. Многие исследователи подразделяют их на органоспецифические и органонеспецифические (системные).

К *органонеспецифическим системным* АИЗ относятся генерализованные аутоиммунные расстройства с поражением большинства тканей и органов. В эту группу болезней входят системные ***аутоиммунные болезни соединительной ткани*** (системная красная волчанка – СКВ, ревматоидный артрит, системная склеродермия, полимиозит), антифосфолипидный синдром и некоторые другие.

Органоспецифические и *смешанные АИЗ* – это состояния с преимущественным аутоиммунным поражением одного органа, ткани или системы. К ним относят аутоиммунный тиреоидит (болезнь

Хашимото), диффузный токсический зоб (болезнь Грейвса), хроническую недостаточность надпочечников (болезнь Аддисона), отдельные варианты сахарного диабета, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, отдельные варианты атрофического гастрита, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, аутоиммунный гломерулонефрит, поражения нервной системы (рассеянный склероз, тяжелая миастения), болезни глаз (аутоиммунный увеит и симпатическая офтальмия), буллезные аутоиммунные дерматозы, аутоиммунные заболевания крови (гемолитическая анемия, пернициозная анемия, тромбоцитопения, агранулоцитоз и др.).

Диагностика АИЗ основана на клинических, инструментальных и лабораторных критериях. Для АИЗ характерны следующие иммунологические признаки:

- наличие аутоантител в сыворотке крови и в других биологических жидкостях;
- выявление лимфоцитов, сенсibilизированных против тканевых аутоантигенов;
- циркуляция в крови антигенов пораженной ткани, их присутствие в иммунных комплексах;
- морфологические признаки иммунопатологии в пораженных органах (моноклеарная инфильтрация, наличие иммунных комплексов, антител, сенсibilизированных лимфоцитов и др.).

Для лечения АИЗ используют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) – индометацин, диклофенак, ибупрофен, мелоксикам и др., а также глюкокортикостероиды. В тяжелых случаях к ним добавляют иммунодепрессанты: метотрексат, циклоспорин А, такролимус. Значительным достижением в терапии тяжелых форм аутоиммунных заболеваний стало применение таргетной терапии – лечения АИЗ гуманизированными моноклональными АТ. Назначаются инфликсимаб и адалимумаб – мАТ против α -ФНО или ритуксимаб – мАТ против молекулы CD20 (маркера В-лимфоцитов). Терапия данными препаратами позволяет достичь устойчивой ремиссии иммунопатологического состояния.

Реакции трансплантационного иммунитета

Прогресс современной медицины во многом связан с достижениями медицинской науки в области трансплантологии. Исходы ряда тяжелейших заболеваний удалось коренным образом улучшить путем пересадки (**трансплантации**) пациентам донорских клеток, тканей или органов. К таким состояниям относятся лейкозы и другие заболевания крови, ожоговая болезнь, необратимая декомпенсация почечной, печеночной, сердечной и дыхательной функции, отдельные виды онкопатологии.

Ведущую роль в **трансплантационном иммунитете** играет **ответная реакция** системы иммунитета **реципиента** на ткани и органы (**трансплантаты**), полученные при пересадке от генетически (и иммунологически) **неидентичного донора**.

С учетом направления данной реакции (система иммунитета реципиента → орган донора), она именуется как **реакция «хозяин против трансплантата»**.

В особых условиях может возникать обратная реакция – **«трансплантат против хозяина»** или **РТПХ**. Она развивается при пересадке реципиенту донорских иммунокомпетентных клеток или их предшественников. При этом организм реципиента обычно находится в состоянии глубокой иммунодепрессии (облучение костного мозга, иммуносупрессивная химиотерапия и т.д.). В клинической практике РТПХ наиболее часто отмечается после **аллотрансплантации костного мозга** при лечении лейкозов, апластической анемии, первичных иммунодефицитов, лучевой болезни и некоторых других состояний.

Различные **варианты трансплантации** зависят от **источника донорских тканей и органов**. Они определяются степенью генетического и иммунологического сходства между тканями реципиента и донора.

Аутоотрансплантация – это пересадка **собственных** клеток, тканей или органов в другое место организма. Аутоотрансплантат функционирует, если обеспечено его нормальное кровоснабжение. В клинике активно применяется аутоотрансплантация кожи при ожоговой болезни. Для улучшения кровоснабжения органов используются аутоотрансплантаты (биопротезы) сосудов, например, при проведении операции аортокоронарного шунтирования при ишемической болезни сердца или при хирургическом лечении облитерирующего атеросклероза конечностей.

При **сингенной трансплантации** выполняется пересадка органов и тканей между генетически идентичными организмами. В лабораторных условиях ее проводят между животными одной генетически чистой линии. У человека данный вариант возможен только в условиях пересадки между однояйцевыми близнецами.

Очевидно, что при ауто- и сингенных трансплантациях трансплантационный иммунитет не активируется, и реакций отторжения пересаженных органов и тканей не наблюдается.

При **аллотрансплантации** пересадка клеток или органов происходит между представителями **одного вида**, при **ксенотрансплантации** – между особями **разных видов**.

В этих случаях (особенно при ксенотрансплантации) донор и реципиент имеют выраженные генетические и антигенные отличия. Это неизбежно ведет к активации системы иммунитета реципиента с последующим **отторжением трансплантата**. Для предотвращения реакций отторжения, необходим, с одной стороны, подбор максимально совместимых пар «донор-реципиент», с другой – постоянная избирательная иммуносупрессия организма реципиента.

В современной клинической практике наиболее широкое применение получила **аллотрансплантация** органов и тканей – почек, сердца, печени, легких, поджелудочной железы и островковых клеток, костного мозга.

Исторически первым успешным вариантом аллотрансплантации стало **переливание крови** (**гемотрансфузия**) при условии совместимости донора и реципиента по системе групп крови АВО и резус-фактору.

В сыворотках большинства людей (за исключением имеющих АВ(IV) группу крови) присутствуют **альфа** или **бета-агглютинины** – естественные антитела класса IgM, направленные к соответствующим А и В-агглютиногенам эритроцитов и других клеток.

Случайное переливание АВО-несовместимой крови ведет к быстрому связыванию агглютининов реципиента с агглютиногенами донорских эритроцитов. Развиваются жизнеугрожающие **посттрансфузионные реакции** – гемолитический шок из-за разрушения эритроцитов системой комплемента и макрофагами в печени и селезенке с массивным выделением гемоглобина. У пострадавших наступает некроз почечных канальцев с острой почечной недостаточностью (гемолитическая почка). Гиперпродукция провоспалительных цитокинов сопровождается лихорадкой, у

пациентов возникает синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания с кровотечениями (**ДВС-синдром**).

Более слабые посттрансфузионные реакции могут наблюдаться при несовместимости по другим (минорным) системам антигенов групп крови.

При пересадке **сóлидных органов**, таких как почки, печень, сердце или легкие, основную роль в реакциях трансплантационного иммунитета играет **несовместимость по аллоантигенам системы HLA** между донором и реципиентом.

В отторжении аллотрансплантата принимают участие как клеточные, так и гуморальные факторы иммунитета реципиента. Ведущая роль здесь принадлежит Т-лимфоцитам, которые распознают антигены системы HLA на клетках пересаженного органа.

Установлены два основных механизма активации Т-лимфоцитов реципиента – *прямая* и *непрямая* презентация им HLA-антигенов донора.

Прямая презентация – это прямое связывание Т-лимфоцитами реципиента (их Т-клеточными рецепторами) донорских HLA-АГ на клетках трансплантата.

Непрямая презентация включает захват и процессинг HLA-АГ донора дендритными клетками (ДК) реципиента с дальнейшим представлением донорских антигенов HLA Т-лимфоцитам реципиента.

Активированные таким образом (CD8+) **цитотоксические Т-лимфоциты** непосредственно разрушают клетки аллотрансплантата. Хелперные (CD4+) Т-клетки повреждают трансплантат, выделяя провоспалительные цитокины. Кроме того, цитокины Т-хелперов стимулируют киллерную активность цитотоксических Т-лимфоцитов, ЕК-клеток и фагоцитоз.

Антитела реципиента, направленные к HLA-АГ донора, также участвуют в разрушении аллотрансплантата. Такие АТ появляются в результате стимуляции В-лимфоцитов HLA-антигенами донора. Данный механизм включает презентацию HLA-антигенов донора В-лимфоцитами, активацию Т-хелперных клеток (Т_{ФХ} и Т_{х2}), бласттрансформацию АГ-специфических В-лимфоцитов и их превращение в плазмочиты с синтезом антител.

HLA-специфические АТ активируют *систему комплемента* по классическому пути. Кроме того, они усиливают литическую активность макрофагов и естественных киллеров в отношении

донорских клеток (антителозависимая клеточная цитотоксичность или АЗКЦ).

В естественных условиях (т.е. без иммуносупрессии) отторжение аллотрансплантата является неизбежным. Патоморфологическое исследование пораженного органа выявляет различную гистологическую картину повреждения, что соответствует разным механизмам отторжения.

Сверхострое отторжение может развиваться сразу после наложения анастомозов между сосудами реципиента и донорского органа (в течение первых минут, часов или начальных дней трансплантации). Оно проявляется острым тромбозом сосудов пересаженного органа. Сверхострое отторжение обусловлено взаимодействием АТ реципиента с эндотелиальными клетками в сосудах донорского органа и их последующим разрушением. Появление таких АТ у реципиента обычно связано с предыдущими переливаниями крови, трансплантациями или неоднократной беременностью.

Реакция сверхострого отторжения также регулярно возникает при *ксенотрансплантациях*, что резко ограничивает их клиническое применение. Данная реакция обусловлена, главным образом, естественными антителами к полисахаридным клеточным антигенам, которые обладают межвидовой специфичностью.

Острое отторжение может наблюдаться через несколько дней или в течение первых недель после пересадки. Оно обусловлено действием АГ-специфических *T-лимфоцитов* и *антител*. В современной клинической практике эпизоды острого отторжения обычно возникают через длительное время после трансплантации, что связано с лечебными мероприятиями по предупреждению отторжения.

Острое отторжение сопровождается повреждением сосудов и паренхимы аллотрансплантата. Ведущий механизм повреждения донорского органа – активация (CD8+) **цитотоксических T-лимфоцитов**, разрушающих эндотелий сосудов. Провоспалительные цитокины и воздействие АТ на эндотелий донора значительно усиливают повреждение трансплантата.

Хроническое отторжение аллотрансплантата характеризуется медленным ухудшением его функций на фоне проводимой иммуносупрессии. Оно проявляется как **васкулопатия** с прогрессирующим артериосклерозом пересаженного органа. В итоге развивается **фиброз** трансплантата с потерей его функций.

Хроническое отторжение обусловлено иммунологическими и неиммунологическими механизмами. Важную роль здесь играет локальная продукция иммунными клетками цитокинов, стимулирующих фиброгенез (ТФР-бета, ИЛ-6 и других).

Для предотвращения реакций отторжения при аллотрансплантациях разработан целый комплекс профилактических и лечебных мероприятий.

В первую очередь выполняется **подбор** наиболее совместимых пар «**донор-реципиент**». Обязательным условием здесь является совместимость по антигенам групп крови системы АВО для предотвращения сверхострого отторжения трансплантата.

Достичь полной совместимости между донором и реципиентом по системе HLA при аллотрансплантациях практически невозможно. Это определяется крайним разнообразием вариантов аллелей системы HLA и множеством их возможных сочетаний.

Однако при планировании трансплантации необходимо максимально уменьшить различия по HLA между донором и реципиентом; от этого прямо зависит общий срок выживаемости трансплантата.

С данной целью применяют **HLA-типирование донора и реципиента**, которое в настоящее время проводят **методом ПЦР**. Ранее при оценке HLA-совместимости использовали серологические реакции и реакцию смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ). В последнем случае смешивали инаktivированные лейкоциты донора с культурой лейкоцитов реципиента и оценивали их реактивность в условиях *in vitro*.

Клинический опыт показал, что при пересадке почки удовлетворительные результаты наблюдаются при совместимости донора и реципиента по 3 основным аллелям из 6 – HLA-A, -B и DR.

HLA-типирование также играет важнейшую роль при пересадке костного мозга, так как дополнительно позволяет снизить риск реакции «**трансплантат против хозяина**» (**РТПХ**).

Почки и клетки костного мозга могут длительное время сохраняться в банках органов и тканей в ожидании последующей трансплантации. Однако при пересадке сердца или печени возникают сложности из-за проблем с консервацией органов и редкостью их донорства. В данных условиях донор и реципиент должны быть обязательно совместимы по системе АВО, а возможности HLA-типирования в этих случаях объективно ограничены. Ключевая роль в

успешном приживлении трансплантата здесь принадлежит направленной иммуносупрессивной терапии.

Правильно подобранная **иммуносупрессивная терапия** позволяет эффективно подавлять реакции отторжения и обеспечивать выживание и функцию аллотрансплантата в течение многих лет.

Хорошо известно выраженное иммунодепрессивное действие *глюкокортикостероидных гормонов*.

Назначение препаратов *антител против Т-лимфоцитов* (анти-CD3 и анти-CD25) значительно снижает общее количество Т-клеток в крови реципиента и подавляет их дальнейшее образование. Антилимфоцитарный иммуноглобулин используют для купирования острых кризов отторжения трансплантата. Наиболее современные антилимфоцитарные биопрепараты разработаны на основе гуманизированных моноклональных АТ к лимфоцитам. Вероятность анафилактических реакций при их введении минимальна.

Тем не менее, **в основе всех современных схем предотвращения реакций отторжения** лежит использование лишь нескольких лекарственных средств, которые высокоизбирательно **подавляют активацию Т-лимфоцитов** реципиента.

В данную группу входят **циклоспорин, такролимус (FK506) и рапамицин (сиролимус)**. Конечным результатом их действия является обратимая блокада ИЛ-2-зависимой дифференцировки Т-лимфоцитов. При этом рапамицин ингибирует цитотоксические Т-лимфоциты, но не действует на регуляторные (супрессорные) Т-клетки. Также он угнетает пролиферацию В-лимфоцитов и антителогенез.

Широкое внедрение этих препаратов в клинику трансплантологии радикальным образом улучшило исходы аллотрансплантаций органов и тканей. До начала их применения большинство аллотрансплантатов сердца и печени отторгались, в настоящее время до 80% сердечных трансплантатов сохраняют свою функцию в течение 5 лет и более, 75% трансплантатов печени жизнеспособны в течение 10 лет. Средняя выживаемость трансплантатов почки от родственного живого донора сейчас составляет 15-20 лет.

Безусловно, что данные лекарственные средства обладают серьезными побочными эффектами. В частности, назначение циклоспорина требует постоянного мониторинга его терапевтической концентрации, при превышении которой проявляется его выраженное токсическое действие (поражение почек и других органов). Также они могут вызывать системную иммуносупрессию с развитием

инфекционных осложнений и стимуляцией опухолевого роста. Ведущими оппортунистическими патогенами у таких пациентов являются цитомегаловирусы (ЦМВ), вирус опоясывающего герпеса, вирус Эпштейна-Барр, протозойные и грибковые возбудители.

Внедрение в практику новых лекарственных средств, лишенных недостатков предыдущих поколений, воздействующих на регуляторные Т-клетки, факторы транскрипции лимфоцитов, функцию костимулирующих молекул и др., а также использование генно-модифицированных клеток, тканей и органов открывают широкие перспективы для дальнейшего развития современной трансплантологии.

Особенности противоопухолевого иммунитета

Из-за нарушения регуляции клеточного цикла развития, нормальные клетки могут претерпевать опухолевую трансформацию, которая переходит в опухолевую прогрессию с ростом опухоли и метастазированием. Иногда трансформация нормальных клеток в опухолевые вызывается инфекционными агентами, ведущую роль среди которых играют вирусы. В частности, вирусы гепатита В и С стимулируют образование гепатоцеллюлярной карциномы, высокоонкогенные штаммы вируса папилломы человека индуцируют рак шейки матки и другие опухоли, вирус Эпштейна-Барр – В-клеточные лимфомы, Т-лимфотропные вирусы – Т-клеточные лейкозы.

Гено- и фенотипические изменения, возникающие в процессе канцерогенеза, затрагивают активность многих клеточных белков и других молекул. Поэтому структура опухолевых клеток изменяется, и они начинают экспрессировать собственные антигены, различные по происхождению.

Выявлен ряд опухолеспецифических антигенов: **простатоспецифический антиген (ПСА)** при раке предстательной железы; онкофетальные антигены – **раковозмбриональный АГ (РЭА)** при опухолях желудочно-кишечного тракта и **α -фетопротеин** при гепатокарциноме; **гликопротеиновые** (углеводные) АГ СА 19-9 при раке поджелудочной железы и СА-125 при раке яичников и др.

Такие АГ значительно отличаются по уровню специфичности и по частоте обнаружения при разных вариантах опухолей.

Также в опухолях может усиливаться синтез белков – продуктов клеточных онкогенов (Ras-белок при аденокарциномах, HER2/Neu при раке молочной железы и других формах рака). Наконец, в тканях опухолей нарушается функция белков-супрессоров опухолевого роста, которые также подвергаются мутациям (активатор апоптоза белок p53 и другие).

На опухолевые антигены возникает ответная реакция, в которой участвуют различные популяции иммунных клеток и антитела. Одной из важнейших функций системы иммунитета является **иммунологический надзор**, обеспечивающий распознавание и своевременное удаление из тканей перерожденных или инфицированных клеток с измененной антигенной структурой. Однако многие, если не большинство, опухолевых АГ являются слабыми стимуляторами иммунитета, что приводит к *ускользанию* опухолевых клеток от иммунологического контроля.

Центральная роль в противоопухолевом иммунитете принадлежит цитотоксическим лимфоцитам – естественным киллерным клеткам (ЕКК) и (CD8+) цитотоксическим Т-лимфоцитам.

Распознавание **измененных молекул HLA I** класса на мембранах клеток опухоли активирует **естественные киллеры**, которые в ответ продуцируют широкий спектр цитотоксических молекул – порообразующий белок **перфорин**, **лимфотоксин** (β-ФНО), ферменты-**гранзимы**, которые активируют **апоптоз** раковых клеток.

Цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры) распознают опухолевые АГ после их презентации в комплексе с молекулами HLA I класса. Затем Т-киллеры запускают программу клеточной гибели, выделяя свой комплекс цитотоксинов (перфорин и др. молекулы). В этом процессе важное значение имеет эффективная презентация опухолевых пептидных АГ дендритными клетками для Т-киллеров.

Макрофаги играют двойственную роль в противоопухолевом иммунитете. С одной стороны, классические активированные **M1-макрофаги** прямо участвуют в разрушении опухолей. Они могут непосредственно связываться с опухолевыми клетками с выделением лизосомальных ферментов, активных форм кислорода и азота, противоопухолевых цитокинов (фактор некроза опухолей ФНО и др.).

С другой стороны, альтернативно активированные **M2-макрофаги** проявляют иммуносупрессорное действие. Они секретируют ТФР-бета и ИЛ-10, которые подавляют активацию цитотоксических лимфоцитов. Кроме того, M2-макрофаги выделяют

сосудистый эндотелиальный фактор роста, который ускоряет рост кровеносных сосудов в опухоли и тем самым способствует метастазированию.

Точная роль **антител** в противоопухолевом иммунитете до конца не установлена. Антитела, связавшиеся с антигенами на мембранах опухолевых клеток, могут активировать *комплемент* по классическому пути. Кроме того, через свой Fc-фрагмент они взаимодействуют с Fc-рецепторами естественных киллеров и других эффекторных клеток, увеличивая их противоопухолевую активность (*антителозависимая клеточная цитотоксичность* или АЗКЦ). Данные процессы ведут к иммунному разрушению опухолей. Однако в ряде случаев связывание АТ с мембранными опухолевыми АГ приводит к недоступности раковых клеток для системы иммунитета (*феномен усиления роста опухоли под влиянием АТ*).

В тканях опухоли реализуется целый ряд механизмов, препятствующих действию факторов иммунитета на опухолевые клетки. Среди них рассматриваются следующие:

- *слабая иммуногенность* опухолевых АГ, мало отличающихся от структур нормальных тканей;
- подавление экспрессии *антигенов HLA* на мембранах опухолевых клеток; уменьшение синтеза *костимулирующих молекул*;
- образование поверхностного *слоя полисахаридов* (гликокаликса), экранирующего опухолевые антигены;
- усиление активности *иммуносупрессорных клеток* (Трег, М2-макрофагов) в процессе злокачественного роста;
- стимуляция *апоптоза* опухолеспецифических *Т-лимфоцитов*, мигрировавших в опухолевую ткань.

Последний механизм связан с высокой способностью опухолевых клеток реагировать с мембранными *молекулами контрольных точек* Т-лимфоцитов (PD-1 и другими). **PD-1** относится к ингибиторным костимулирующим молекулам; активация PD-1 запускает апоптоз Т-лимфоцитов.

В **диагностике опухолей** широко применяют иммунологические методы. Методами *иммуногистохимии* выявляют опухолевые клетки по их маркерам, исследуя гистологические препараты из биоптатов опухолей. С помощью *проточной цитофлюориметрии* проводят иммунофенотипирование лейкозных клеток.

Иммуноферментным анализом (ИФА) и другими иммунотестами выявляют циркулирующие опухолевые антигены в крови. Чаще других определяют антиген карциномы печени (α -фетопроtein или

АФП), простатспецифический антиген (**ПСА**). В частности, определение ПСА применяют для скрининга рака предстательной железы у мужчин.

Значительный прогресс в *лечении опухолей* был достигнут после широкого внедрения в клиническую практику *иммунобиопрепаратов на основе гуманизированных моноклональных антител* и генно-модифицированных иммунных клеток. С их помощью у значительного числа пациентов с далеко зашедшими формами онкопатологии удается добиться длительной ремиссии или даже полного излечения.

Сейчас в онкологии применяется свыше 30 видов моноклональных противоопухолевых АТ для лечения самых различных форм онкозаболеваний. Препарат трастузумаб используется для лечения метастатического рака молочной железы (мишень – опухолевый АГ HER2/Neu), бевацизумаб – для лечения метастатического колоректального рака (мишень – сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF), ритуксимаб – для лечения В-клеточных лимфом (мишень – мембранный маркер В-лимфоцитов CD20). Весьма перспективными являются препараты мАТ – *ингибиторы молекул контрольных точек*, таких как **PD-1** и их лиганды. К этим мАТ относятся пембролизумаб, пролголимаб и ряд других. Данная группа препаратов с успехом применяется для лечения самых разных видов метастатических опухолей, весьма трудно поддающихся традиционной терапии.

Другим важным направлением в иммунотерапии опухолей является использование иммунных клеток с генно-модифицированными рецепторами к опухолевым АГ. В настоящее время в клинике используются Т-лимфоциты с *химерными антигенными рецепторами* (chimeric antigenic receptor T cells или технология **CAR-T**). Методами генной инженерии для Т-клеток конструируется химерный мембранный рецептор, объединяющий фрагмент антитела к опухолевому АГ и домены активации Т-лимфоцитов (CD3 или другие). С началом экспрессии рецепторов CAR на Т-лимфоцитах, CAR-T клетки вводятся в организм пациентов, где избирательно связываются с опухолевыми клетками, активируются и разрушают их (*клеточная адаптивная иммунотерапия*).

В проводимых исследованиях разработаны новые варианты генетически модифицированных CAR-лимфоцитов. Наиболее

перспективными из них являются клетки, несущие активационные рецепторы естественных киллеров (NKG2D).

В лечении и профилактике опухолей заметное место также могут занять **противоопухолевые вакцины**. Уже в течение длительного времени для лечения рака мочевого пузыря используется местное введение вакцины БЦЖ как иммуностимулятора, активирующего дендритные клетки, макрофаги и Т-лимфоциты.

Сейчас разрабатываются и внедряются в клинику новые современные виды противораковых вакцин. Большинство из них являются препаратами **персонализированной медицины**. Вакцины на основе **дендритных клеток** включают выделенные от пациента дендритные клетки (ДК), которые стимулируют опухолевыми АГ в условиях *in vitro* или вводят в них гены, кодирующие данные опухолевые АГ. Такие стимулированные ДК, введенные повторно в организм пациента, с высокой эффективностью активируют опухолеспецифические Т-лимфоциты.

Весьма высокую эффективность демонстрируют также первые образцы персонализированных вакцин, для получения которых применяли **полногеномное секвенирование** опухолевых клеток. Секвенирование индивидуальных опухолей позволило выявить полный набор мутаций в опухоли в сравнении с нормальными клетками пациента. Исходя из полученных генетических данных, в основу для вакцины был положен весь комплекс измененных опухолевых белков (в другом варианте – набор иРНК, кодирующих эти белки). В результате более чем у половины пациентов с высокоагрессивной опухолью (меланомой) наступила полная ремиссия заболевания.

Наибольший успех в **предупреждении** онкопатологии посредством вакцинации получен в отношении опухолей, ассоциированных с инфекцией. В частности, вакцинация против гепатита В полностью предупреждает развитие как самого заболевания, так и связанной с ним гепатокарциномы. Вакцинация против онкогенных вирусов папилломы человека предохраняет от рака шейки матки и некоторых других опухолей.

В будущем противоопухолевые вакцины могут стать самым действенным средством иммунопрофилактики многих видов онкопатологии.

Экологическая иммунология

Развитие иммунопатологии зависит от эндогенных и экзогенных причин. Эндогенные – наследственная предрасположенность и предшествующие заболевания, экзогенные – факторы внешней среды. Система иммунитета высокочувствительна к экологически вредным факторам, которые содержатся в воде, воздухе, пище. Особенно много иммуотоксинов встречается при различных производствах и в первую очередь – химических. Ксенобиотики, как правило, высокотропны к клеткам СИ и модифицируют иммунные реакции.

Существуют следующие группы вредных иммуотропных веществ:

- продукты полного и неполного органического сгорания, особенно дизельного топлива (токсичные радикалы и окислы);
- химические вещества: формальдегиды и содержащие его смолы, фенолы, бензолы, продукты синтеза пластмасс, нефтехимии, резиновой и лакокрасочной промышленности, вещества бытовой и сельскохозяйственной химии: моющие, пищевые добавки и косметические средства, пестициды, гербициды, инсектициды и др.;
- металлы и соли свинца, ртути, платины, кобальта, никеля и др.;
- неорганическая и органическая пыль и аэрозоли;
- лекарства и медикаменты;
- биологические продукты: пыльцевые, бытовые, грибковые, бактериальные, вирусные антигены и аллергены.

Наиболее сильные иммунодепрессивные эффекты оказывают *иммуотоксины*: пестициды, гербициды, фосфорорганические соединения, соли тяжелых металлов, токсичные радиалы.

Лекарства и медикаменты в зависимости от свойств могут оказывать *иммунодепрессивное* или *аллергенное* действие. Вещества биологического происхождения чаще индуцируют реакции гиперчувствительности, в первую очередь – аллергию.

Все иммуотропные вещества вызывают *транзиторные иммуномодуляции*, особенно у генетически предрасположенных людей. При многократных воздействиях они могут приводить к развитию иммунопатологии или опухолевой трансформации.

Влияние вредных факторов внешней среды на систему иммунитета человека и изменения его иммунного статуса изучает **экологическая иммунология**. Ее предмет – это определение параметров иммунного статуса населения различных, в том числе

экологически неблагополучных регионов; установление связи между возникновением иммунопатологии и действием экологически вредных факторов, разработка методов профилактики и коррекции нарушений системы иммунитета.

Физические факторы (лучевая и волновая энергия) в больших дозах оказывают неспецифическое иммунодепрессивное действие, а в малых – нередко иммуностимулирующее на некоторые показатели системы иммунитета.

Иммунодефициты

Иммунодефицит (ИД) – это **недостаточность** функции системы иммунитета, обусловленная врожденными **генетическими** причинами или **внешними** факторами, приводящими к структурным и функциональным нарушениям какого-либо звена в системе иммунитета.

Иммунодефициты характеризуются генетическими и/или лабораторными признаками дефекта в системе иммунитета с клиническими или без клинических проявлений.

Иммунодефициты могут затрагивать любое звено в системе иммунитета. Нередки варианты комбинированных нарушений. Тем не менее, во многих случаях иммунодефициты остаются латентными вследствие больших резервов и взаимозаменяемости механизмов, определяющих многочисленные взаимосвязи в системе иммунитета.

Тяжелые декомпенсированные формы иммунодефицита сопровождаются развитием заболеваний, обусловленных иммунодефицитом. В первую очередь, к ним относятся **рецидивирующие оппортунистические инфекции**, вызванные условно-патогенными бактериями, грибами, простейшими, вирусами. Также у данных пациентов могут возникать аутоиммунные расстройства и опухоли.

Инфекционные синдромы любой локализации – главные «маркеры» иммунодефицитов и служат клиническими проявлениями **иммунодефицитной болезни**.

Состояние резистентности, иммунитета организма являются определяющими факторами развития любой инфекции.

Иммунодефициты подразделяются на **первичные** и **вторичные**.

Первичные ИД – это иммунодефициты, обусловленные **генетическими аномалиями**, проявляющиеся чаще всего в детском

возрасте.

Вторичные ИД возникают у клинически здоровых лиц под влиянием различных **внешних факторов** (биологических, химических, физических). Тем не менее, у многих людей со стойкими вторичными ИД можно выявить генетическую предрасположенность к ним.

Наиболее тяжелыми иммунодефицитными состояниями, которые во многих случаях характеризуются неблагоприятным прогнозом, являются первичные иммунодефициты.

Первичные иммунодефициты – тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД)

Тяжелый комбинированный ИД или ТКИД проявляется в различных формах. Суммарно все варианты ТКИД составляют до 25% от общего числа первичных иммунодефицитов.

ТКИД, сцепленный с X-хромосомой, связан с мутацией гена, кодирующего гамма-цепь мембранного рецептора для ряда интерлейкинов. Данная цепь является общей для рецепторов цитокинов **ИЛ-7**, ИЛ-2, 4, 9, 15, 21. Ген иммунодефицита локализован в X-хромосоме. ИЛ-7 является важнейшим дифференцировочным фактором в развитии Т-лимфоцитов и ЕК-клеток, поэтому у новорожденного данные клетки не определяются, или их число минимально, а функция нарушена. Содержание В-клеток может соответствовать норме или даже превышать ее, но эти клетки слабо секретируют иммуноглобулины; уровни иммуноглобулинов А, М, G снижены.

Сходная по клинике и прогнозу картина наблюдается при дефекте гена **протеинкиназы Jak 3** – аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с мутацией гена в 19-й хромосоме.

Причиной ТКИД могут быть также другие генетические аутосомно-рецессивные аномалии. Среди них установлены дефициты ферментов метаболизма нуклеиновых кислот, затрагивающие в первую очередь клетки системы иммунитета. Это приводит к **накоплению токсичных метаболитов** деградации нуклеиновых кислот с запуском апоптоза лимфоцитов.

К ним относится **недостаточность аденозиндезаминазы (АДА)**. Генетический механизм: дефект в локусе 20-й хромосомы; имеется «молчащий» аллель локуса АДА. Дефицит АДА в лимфоцитах ведет к

накоплению деоксиаденозина, токсично действующего на Т-лимфоциты. Уже в первые недели жизни отмечается лимфоцитопения; дефицит Т-лимфоцитов появляется сразу после рождения ребенка. Аномалии в системе иммунитета сочетаются с пороками развития скелета (деформация, окостенение).

Сходные биохимические механизмы лежат в основе ИД из-за недостаточности энзима **пурииннуклеозидфосфорилазы (ПНФ)**, обусловленные мутацией гена данного фермента в 14-й хромосоме.

Весьма редким тяжелым вариантом ТКИД является **ретикулярный дисгенез**, причиной которого является мутация в гене аденилаткиназы 2. Результатом является **ускоренный апоптоз** клеток-предшественников гемопоэза с полным отсутствием Т- и В-лимфоцитов и большинства клеток миелоидного ряда, включая гранулоциты.

Прогноз всех форм ТКИД очень серьезный, методом лечения является трансплантация HLA-совместимого костного мозга. Разрабатываются экспериментальные методы генотерапии.

Часто ТКИД сочетаются с другими аномалиями внутриутробного развития. К варианту сочетанной патологии относится **атаксия-телеангиэктазия** или **синдром Луи-Бар**.

Механизм ИД связан с мутацией гена, локализованного в 11-й хромосоме. У данных пациентов установлены **нарушения репарации ДНК** в процессе рекомбинации генов варибельных участков иммуноглобулинов, особенно при переключении синтеза различных классов ИГ. Также у пациентов наблюдается недоразвитие (гипоплазия) тимуса и атрофия лимфоузлов.

Клиника данного ИД полиморфна, изменения в системе иммунитета прогрессируют с возрастом. Болезнь обычно диагностируется в возрасте 5-7 лет. В начальной фазе заболевания преобладают неврологические и сосудистые расстройства – развивается мозжечковая атаксия, поражаются сосуды склер и кожи (телеангиэктазии). Поражение системы иммунитета в дальнейшем усугубляется, характерно развитие затяжных пневмоний, онкопатологии. Снижен уровень Т-лимфоцитов, определяется дефицит иммуноглобулинов, в первую очередь IgA и IgG2.

Синдром Вискотта-Олдрича проявляется триадой признаков – сочетанием экземы, тромбоцитопении, рецидивирующей инфекции.

Данный иммунодефицит – рецессивное наследственное заболевание, **сцепленное с X-хромосомой**. В результате мутаций страдает функция цитоскелета лейкоцитов и нарушается экспрессия

мембранного гликопротеина **CD43** – *сиалофорина*, участвующего в активации Т-клеток.

У пациентов с синдромом Вискотта-Олдрича *не определяются антитела к полисахаридным АГ бактерий*; значительно снижен уровень IgM, наблюдается повышенное содержание IgA. У них обнаруживается выраженная гипоплазия вилочковой железы и лимфоидной ткани. Выявляется лимфопения и тромбоцитопения, отсутствуют реакции ГЧЗТ, определяемые кожными тестами; снижен ответ лимфоцитов на митогены и антигены; страдает подвижность лейкоцитов.

В клинической картине наблюдаются тромбоцитопения сразу при рождении; кровотечения; экзема. У детей в первые месяцы жизни возникают повторные гнойные инфекции, вызываемые капсульными бактериями (например, пневмококками, клебсиеллами), в дальнейшем могут развиваться злокачественные опухоли (5-10%).

Т-клеточные первичные иммунодефициты

При этих состояниях происходит преимущественное поражение Т-звена системы иммунитета.

Ведущей патологией здесь является *аплазия* или *гипоплазия тимуса – синдром Ди-Джорджи*.

Механизм: нарушено эмбриональное развитие структур 3-4-го глоточных карманов; установлена делеция в хромосоме 22, в результате не развивается эпителий тимуса и паращитовидных желез. Исходное количество Т-лимфоцитов значительно снижено. Первоначальный уровень АТ близок к нормальному, но впоследствии может уменьшаться.

Клиника синдрома: аплазия или гипоплазия тимуса; пороки развития – аномалия дуги аорты, недоразвитие крупных сосудов, грудины; катаракта; неонатальная тетания из-за недоразвития паращитовидных желез (гипопаратиреоз); частые инфекционные осложнения, вызванные микобактериями, вирусами, грибковыми патогенами.

Иммунодефицит при синдроме Ди-Джорджи может частично восстанавливаться к 5 годам после рождения вследствие активности остаточной ткани тимуса и наличия эктопических очагов тимического эпителия.

Синдром Незелофа также относится к аутосомно-рецессивным наследственным аномалиям, хотя точная природа генетического дефекта пока не установлена. По механизму патогенеза он сходен с дефицитом ПНФ – *пурииннуклеозидфосфорилазы*. Синдром характеризуется гипоплазией тимуса, нарушением нормального созревания Т-лимфоцитов, их дефицитом в Т-зависимых зонах системы иммунитета. Резко угнетены функции Т-клеток, общее количество лимфоцитов уменьшено, синтез иммуноглобулинов нормален или снижен, антителообразование угнетено.

В-клеточные иммунодефициты

При этих дефицитах происходит преимущественное поражение В-звена системы иммунитета.

Ярким примером В-клеточного иммунодефицита является **агаммаглобулинемия, сцепленная с X-хромосомой** (или **болезнь Брутона**), описанная американским педиатром О. Брутоном в 1952 г.

При данном заболевании возникают мутации гена, кодирующего **тирозинкиназу *btk*** (или *Bruton's tyrosine kinase*). Вследствие этого нарушается дифференцировка В-клеток на стадии пре-В-лимфоцита. Болезнь имеет рецессивный тип наследования, сцепленный с X-хромосомой (болеют только мальчики). Отсутствуют или резко снижены общие уровни IgM, IgG и IgA. В лимфоидной ткани и слизистых оболочках не обнаруживаются плазматические клетки.

До 6-9 месяцев организм ребенка защищен материнскими антителами. Манифестация болезни Брутона наблюдается в конце 1 года жизни: снижена резистентность организма к бактериям, особенно к пиогенной (гноеродной) микрофлоре (стрептококкам, стафилококкам). Нарушается противогрибковый иммунитет, устойчивость к вирусным инфекциям сохранена. Нередки сочетания болезни с атопической экземой, аллергическим ринитом, бронхиальной астмой.

В случае адекватной (пожизненной) заместительной терапии **иммуноглобулином для внутривенного или подкожного введения** прогноз для пациентов с болезнью Брутона становится благоприятным. Также им необходима эффективная антибиотикотерапия сопутствующих бактериальных инфекций.

Общий переменный иммунодефицит (ОВИД), также известный как **общая переменная иммунная недостаточность**

(**ОВИН**), относится к наиболее распространенным первичным иммунологическим расстройствам. Патология включает в себя несколько смежных синдромов, в первую очередь – *дисфункцию В-клеток*; кроме того, определяются нарушения цитокиновой регуляции, дефицит костимуляторных молекул, недостаточность Т-хелперов.

Этот недуг обычно проявляется в возрасте 25-30 лет, у пациентов наблюдается лимфоаденопатия, спленомегалия, рецидивирующие инфекции респираторного и желудочно-кишечного тракта, повышается риск опухолей лимфоидного происхождения. При сравнительно неизменном уровне В-лимфоцитов концентрация в крови всех классов иммуноглобулинов значительно снижается.

Дисиммуноглобулинемии – это избирательная недостаточность одного или нескольких классов иммуноглобулинов. Наиболее распространенным из них является **селективный дефицит иммуноглобулина А**. Частота встречаемости этого синдрома составляет 1 случай на 500-700 человек. Данный дефект может быть бессимптомным, однако с ним нередко связаны рецидивы заболеваний органов дыхания и пищеварения, так как IgA защищает слизистые оболочки от инфекционных патогенов.

Селективные дефициты IgM или IgG встречаются редко. Больные с дефицитом IgM обычно погибают от септических осложнений. Дефицит IgG может проявляться различными симптомами в зависимости от отсутствующих субклассов (чаще IgG2).

Дефицит иммуноглобулинов класса Е клинически не проявляется, однако существует наследственный **синдром IgE-гипергаммаглобулинемии** (или **синдром Джоба**), который характеризуется различными аллергическими проявлениями, а также хроническими бактериальными инфекциями.

Дефекты фагоцитоза – первичные иммунодефициты в системе мононуклеарных фагоцитов и гранулоцитов

По механизму такие ИД можно разделить на четыре группы.

В первую группу входят ИД, связанные с недостаточной активностью ферментов, результатом чего является *нарушение переваривания* поглощенного объекта.

Ко второй группе относятся ИД, обусловленные нарушением *хемотаксиса* фагоцитов.

Третья группа ИД связана с недостаточностью *опсонизирующих факторов* сыворотки крови (антител и комплемента).

Четвертая группа характеризуется недостаточной *экспрессией рецепторов* на поверхности макрофагов (для С3-компонента комплемента, для Fc-фрагментов Ig и др.).

Хроническая гранулематозная болезнь характеризуется тем, что лейкоциты способны к фагоцитозу, но не переваривают поглощенные микробы. Различные формы болезни наследуются по аутосомно-рецессивному механизму или сцеплены с X-хромосомой.

В основе патологии лежит **дефицит НАДФ-оксидазы** – ведущего фермента дыхательного взрыва. НАДФ-оксидаза катализирует превращение кислорода в супероксид-анион, необходимый для проявления бактерицидной активности нейтрофилов. В фагоцитах начинают персистировать стафилококки, клебсиеллы, сальмонеллы, энтеробактерии, грибы. На 1-4 году жизни у детей, страдающих данным заболеванием, возникают гнойничковые поражения кожи, абсцессы в различных органах, экзематозный дерматит, лимфадениты, пневмонии, присоединяется грибковая инфекция.

Лабораторными диагностическими критериями патологии служат отсутствие киллинга фагоцитированных бактерий, отрицательный или сниженный тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), подавление хемотропности после фагоцитоза частиц зимозана или латекса.

При **дефиците адгезинов лейкоцитов (LAD-I и LAD-II синдромы)** из-за аутосомных генетических дефектов либо отсутствует бета-цепь лейкоцитарного интегрина CD18, либо нарушается экспрессия селектинов. В результате лейкоциты не прилипают к эндотелию и не мигрируют в ткани.

Синдром Чедиака-Хигаси представляет собой редкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Мутации нарушают экспрессию лизосомального регуляторного белка фагоцитов с подавлением активности микротрубочек цитоскелета.

Клинически патология характеризуется лихорадкой, повышенной чувствительностью к гнойной и вирусной инфекции, кровоточивостью, ослаблением окраски волос, кожи и радужки глаз. В цитоплазме нейтрофилов и макрофагов появляются гигантские вакуоли, образующиеся из-за слияния цитоплазматических гранул. При этом они *не способны сливаться с лизосомами*. Одновременно наблюдаются патологическая агрегация меланосом и, как следствие,

альбинизм.

Повышенная предрасположенность к инфекции объясняется нарушением поступления миелопероксидазы в вакуоли нейтрофилов и слабым их ответом на хемотаксические стимулы.

Недостаточность системы комплемента

В системе комплемента может наблюдаться дефицит любого компонента, причем отсутствие какого-либо фактора блокирует активацию последующих. Это сопровождается развитием различных патологических состояний. Дефицит C1, C2, C4 и C5 проявляется синдромом, схожим с системной красной волчанкой. Дефицит C3 характеризуется рецидивирующими гнойными инфекциями.

Кроме недостаточности компонентов комплемента встречаются дефициты ингибиторов системы комплемента, наиболее распространенным из которых является *дефицит ингибитора C1-компонента комплемента*. Заболевание имеет аутосомно-доминантное наследование. Обычно такие пациенты гетерозиготны, и у них синтезируется небольшое количество ингибитора.

Клинически ***недостаточность C1-ингибитора*** проявляется ***наследственным ангионевротическим отеком***.

При снижении концентрации C1-ингибитора развиваются отеки гортани, лица, шеи, верхних отделов респираторного и желудочно-кишечного тракта, конечностей. Они возникают из-за увеличения концентрации фрагментов C2-компонента, обладающих вазоактивным действием. Активация C2 значительно повышает концентрацию брадикинина, который непосредственно увеличивает проницаемость сосудов и приводит к отеку тканей.

Лечение пациентов заключается в заместительной терапии концентратом C1-ингибитора или препаратами, его содержащими (свежезамороженная плазма). Синтез ингибитора можно повысить, вводя андрогенные гормоны (метилтестостерон). Кортикостероидные гормоны неэффективны. В последнее время для лечения различных форм ангионевротического отека используются ингибиторы калликреина и антагонисты брадикининовых рецепторов.

Вторичные иммунодефициты

Вторичные (приобретенные) **иммунодефициты** развиваются из-за **действия факторов окружающей среды** (биологических, химических, физических). Они встречаются гораздо чаще, чем первичные.

Основными признаками вторичных ИД являются отсутствие наследственной обусловленности; возникновение на фоне исходно нормальной иммунореактивности организма; прослеживается прямая связь с причинным фактором, обусловившим иммунодефицит.

Вторичные иммунодефициты могут поражать любое звено системы иммунитета. К внешним факторам особенно чувствительны клетки системы иммунитета из-за высокого пролиферативного потенциала – способности к активному делению и дифференцировке из клеток-предшественников.

Причины вторичных ИД

1. Лечебные вмешательства, ингибирующие иммунитет:
 - лекарственная иммуносупрессия, включая цитостатическую терапию аутоиммунных заболеваний и химиотерапию онкопатологии;
 - лучевая терапия (радиотерапия) онкологических и других заболеваний;
 - реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после аллотрансплантации костного мозга
 - хирургические вмешательства и наркоз.
2. Заболевания, подавляющие систему иммунитета:
 - вирусные инфекции (ВИЧ-инфекция, цитомегаловирусная инфекция, инфекция вирусом Эпштейна-Барр, вирусные геморрагические лихорадки и др.);
 - бактериальные инфекции (микобактерии туберкулеза, лепры, возбудители чумы и др.), паразитарные инвазии;
 - аутоиммунные болезни, онкопатология;
 - нарушения обмена веществ, потеря белка (ожоговая болезнь);
 - прочие тяжелые заболевания.
3. Недостаточное питание, голодание и истощение (белковая, витаминная, микроэлементная недостаточность).
4. Возрастные факторы: недоношенность детей, возрастная патология старения («синдром пожилых»).

5. Профессиональные вредные факторы (химические, физические, психоэмоциональные).

6. Физический стресс (профессиональный спорт, предельные физические нагрузки и т.д.); глубокий эмоциональный стресс.

7. Экологические неблагоприятные воздействия на организм и систему иммунитета (физические, химические, биологические).

Как и первичный иммунодефицит, вторичный ИД может быть скрытым, не иметь клинических признаков, и выявляться только при лабораторном обследовании. ИД с клиническими признаками становится *иммунодефицитной болезнью*.

Клинические проявления вторичных иммунодефицитов включают хроническими гнойно-воспалительными инфекциями кожи, верхних дыхательных путей, легких, мочеполовой системы, желудочно-кишечного тракта и других органов. От преходящих (транзиторных) сдвигов в системе иммунитета они отличаются *сохранением нарушений* в системе иммунитета *после окончания действия причинного фактора*.

Вторичные иммунодефициты при соматических заболеваниях и онкопатологии

Все тяжелые соматические заболевания приводят к развитию иммунологической недостаточности.

Одной из причин вторичного иммунодефицита служат нарушения обмена веществ. При сахарном диабете, например, угнетаются хемотаксис и фагоцитирующая активность нейтрофилов, в результате чего возникают кожные пиодермии, абсцессы.

При ожогах ИД возникают в связи с большой потерей иммуноглобулинов и белков комплемента с плазмой крови. Если площадь поражения кожи превышает 30%, развиваются нарушения клеточного иммунитета.

Опухоли выделяют иммуномодулирующие факторы и цитокины, подавляющие иммунитет. Наблюдается снижение количества Т-лимфоцитов, увеличение активности клеток-супрессоров, угнетение фагоцитоза. Особенно выраженные изменения возникают при распространенных опухолевых процессах с метастазированием.

Вторичные иммунодефициты, связанные с различными патофизиологическими состояниями

При недостаточном питании (мальнутриция) или голодании иммунодефицит возникает из-за недостатка белков, витаминов и микроэлементов. В этих случаях прежде всего страдает клеточная система иммунитета: снижается ответ лимфоцитов на митогены, наблюдается атрофия лимфоидной ткани, нарушается функция нейтрофилов.

Тяжелые физические нагрузки и сопутствующий стресс у спортсменов-профессионалов в зависимости от длительности нагрузки вызывают временные или стойкие иммуномодуляции. Отмечается снижение уровня иммуноглобулинов, субпопуляций Т-лимфоцитов, активности фагоцитоза. В этот «иммунодефицитный период» спортсмены высокочувствительны к различным инфекциям. Показатели СИ обычно нормализуются в межсоревновательный период, однако не во всех случаях полностью.

Вторичные ИД при *хирургических операциях* связаны с *мощной стрессовой реакцией* и с действием препаратов для наркоза. Развивается временное иммунодефицитное состояние, при котором падает количество Т- и В-лимфоцитов, снижается их функциональная активность. Нарушенные показатели восстанавливаются приблизительно через месяц, если отсутствуют факторы, угнетающие иммунитет.

При *старении* организма ИД являются результатом иммуномодуляций, возникающих от воздействия неблагоприятных факторов и от болезней, особенно вирусных. У здоровых долгожителей (90-100 лет) показатели СИ могут сохраняться на удовлетворительном уровне, хотя и имеют свои особенности.

Новорожденные и дети раннего возраста имеют показатели СИ иные, чем взрослые; у них циркулирует материнский IgG, полученный через плаценту, уровень которого снижается в 3-6 месяцев, что не является ИД. Недоношенные дети рождаются с различными дефектами СИ, связанными как с ее незрелостью, так и с нередкими внутриутробными инфекциями. Искусственное вскармливание детей вызывает дефицит секреторного IgA, лизоцима и других защитных факторов материнского молока.

ГЛАВА 9. ИММУНОДИАГНОСТИКА. ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ, ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Иммунодиагностика и иммунный статус

Иммунодиагностика – это применение иммунологических реакций и методов с целью *лабораторной диагностики заболеваний, оценки иммунного статуса*, а также для *идентификации антигенов*.

Иммунный статус (ИС) – это *состояние системы иммунитета* в определенный момент времени.

Его оценивают *методами иммунодиагностики* для установления природы иммунопатологии – аутоиммунных и аллергических заболеваний, иммунодефицитов.

ИС – состояние *динамическое*, результат непрерывного взаимодействия между системой иммунитета макроорганизма и многочисленными внешними и внутренними факторами.

Комплексная *оценка иммунного статуса* включает определение всех основных *клеточных* и *гуморальных показателей*, характеризующих систему иммунитета.

Клеточные и *гуморальные* тесты могут быть *количественными* (число клеток, концентрация молекул и т.п.) или *функциональными* (качественными), определяющими биологическую активность звеньев системы иммунитета.

В свою очередь, каждый из иммунологических лабораторных тестов может определять либо *специфические*, либо *неспецифические* показатели иммунного статуса.

Специфические факторы *гуморального* иммунитета, к которым относятся *антигены* и *антитела*, определяются при помощи *серологических реакций*.

Специфические факторы *клеточного* иммунитета – *иммунные Т- и В-лимфоциты*, несущие антигенспецифические рецепторы (ТКР и ВКР) – определяются в *клеточных реакциях с антигенами* (реакция бласттрансформации лимфоцитов и другие тесты).

Неспецифические методы характеризуют **общее состояние** различных **звеньев системы иммунитета**: лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов и нейтрофилов, комплемента, иммуноглобулинов, факторов неспецифической резистентности. Обычно эти методы применяют для выявления дефекта в системе иммунитета, т.е. при иммунодефицитах.

Оценка иммунного статуса: характеристика лейкоцитов

Общее количество лейкоцитов в крови и их основные типы (лимфоциты, гранулоциты и моноциты) определяют с помощью *общего анализа крови и подсчета лейкоцитарной формулы*.

Общее количество лейкоцитов в периферической крови составляет $4-9 \cdot 10^9$ клеток/л, лимфоцитов – около $2 \cdot 10^9$ клеток/л.

Лимфоциты составляют 18-37% от общего числа лейкоцитов периферической крови, моноциты – 3-11%, сегментоядерные нейтрофилы – 47-72%, палочкоядерные нейтрофилы – 1-6%, базофилы – 0-1%, эозинофилы – 1-5%.

Лейкоцитоз – увеличение общего количества лейкоцитов (свыше $9 \cdot 10^9$ /л) часто наблюдается при бактериальных инфекциях; *лейкопения* – снижение их количества (менее $4 \cdot 10^9$ /л) – при лечении иммунодепрессантами; *эозинофилия* – увеличение количества эозинофилов свыше 5% – при экзогенной аллергии и гельминтозах. Однако эти данные имеют лишь общий характер, и для оценки иммунного статуса необходимо более детальное определение популяций, субпопуляций лейкоцитов и гуморальных факторов иммунитета.

Определение различных **субпопуляций лейкоцитов** осуществляется путем идентификации их специфических клеточных **маркеров** – мембранных **CD-молекул**.

Базовым лабораторным методом анализа и идентификации субпопуляций иммунокомпетентных клеток является **непрямой метод иммунной флуоресценции** с мышинными **моноклональными антителами** (мАТ) против соответствующих **CD-молекул**.

Методика выполняется следующим образом: суспензия лейкоцитов, полученных из крови пациента, фиксируется на предметном стекле. Препарат обрабатывается моноклональными АТ мыши, направленными к маркерным CD-молекулам. Эти мАТ взаимодействуют только с CD-антигенами на мембранах клеток изучаемой субпопуляции лейкоцитов. После инкубации и

последующей отмывки препарат обрабатывают флуоресцентно мечеными антителами против иммуноглобулинов мыши, которые связываются с иммунным комплексом «МАТ – CD-молекула».

Идентификацию клеток производят в люминесцентном микроскопе. Клетки, несущие специфические CD-АГ, демонстрируют яркое свечение; в ходе микроскопии подсчитывается количество светящихся клеток и вычисляется их процентное содержание.

Принцип иммунофлуоресценции положен в основу современного метода *автоматического подсчета* любых клеточных субпопуляций, позволяющий также автоматическую сортировку клеток. Данная технология получила название **проточной цитометрии**, и в настоящее время является стандартом в количественном определении клеточных популяций.

Проточная цитометрия анализирует клеточную суспензию, состоящую из одиночных клеток, которая протекает через капилляр проточного цитометра. Каждая клетка по очереди появляется на выходе из капилляра. Выход из капилляра пересекает несколько лазерных лучей с разной длиной волны. Один лазер измеряет светорассеяние клетками; тем самым определяется общее количество клеток в материале. Остальные лазеры возбуждают флуоресценцию только тех клеток, которые помечены флуоресцентными моноклональными антителами к CD-АГ. Клетки, несущие специфические CD-антигены, дают свечение и обнаруживаются датчиками флуоресценции.

В дальнейшем на меченые клетки, вышедшие из капилляра, может подаваться электрический потенциал, и они могут быть выделены из общей суспензии действием электрического поля (**клеточная сортировка**).

Технология проточной цитометрии и клеточной сортировки широко используется в клинической медицине и медико-биологических исследованиях.

Используя вышеуказанные способы, можно количественно оценивать любые клеточные субпопуляции.

При **характеристике лимфоидной системы** определяют количество и функциональную активность Т- и В-лимфоцитов.

Основные маркеры общих **Т-лимфоцитов** – молекулы **CD2** и **CD3** (Т-клетки составляют около 60-75% от общего числа лимфоцитов); маркер Т-хелперов – **CD4** (35-55% от общего числа лимфоцитов), цитотоксических Т-лимфоцитов – **CD8** (примерно 15-35% клеток).

До широкого внедрения методов иммунной флюоресценции количество общих Т-лимфоцитов определяли в реакции розеткообразования с эритроцитами барана по их взаимодействию с мембранными CD2-молекулами Т-лимфоцитов.

Иммунорегуляторный индекс – соотношение T_x/T_z – в норме находится в диапазоне 1,4-2,0. Он резко снижается у пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД (может быть меньше 0,04), но может возрастать при аутоиммунных заболеваниях.

Маркеры **В-лимфоцитов** – CD19-22, CD40, CD72. Их доля составляет около 10-20% от общего числа лимфоцитов.

Естественные киллерные клетки (**ЕК-лимфоциты**) определяются по маркерам CD16 и CD56 (5-20% от общего числа лимфоцитов).

Количество интерлейкинов и других **цитокинов**, продуцируемых различными типами лейкоцитов, определяют с помощью **иммуноферментного** или радиоиммунного анализа.

Оценка функциональной активности Т- и В-лимфоцитов

Для оценки функциональной способности Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций используются различные методы.

Одним из основных лабораторных методов здесь является **реакция бласттрансформации лимфоцитов** или **РБТЛ**.

Переход малых лимфоцитов после активации в бластные формы, способные к пролиферации и дальнейшей дифференцировке, называется **бласттрансформацией** и сопровождается изменениями морфологии лимфоцитов. Одна бластная клетка может дать клон из 16-32 и даже 64 клеток, обладающих более высокой иммунокомпетентностью, чем исходный лимфоцит.

РБТЛ оценивает пролиферативный ответ Т- и В-лимфоцитов на стимуляторы пролиферации – **митогены** (митоген-активированная бласттрансформация) и на специфические **антигены** (специфическая бласттрансформация).

С этой целью у обследуемого лица выделяют фракцию мононуклеаров крови, содержащую лимфоциты. Лимфоциты культивируют в специальной ростовой среде (например, RPMI 1640) в присутствии **митогенов** (стимуляторы митотической активности клеток) или **антигенов**. Учет реакции после внесения митогенов проводят через 2-4 суток, а после стимуляции антигенами через 3-5 суток.

В процессе инкубации происходит стимуляция отдельных групп лимфоцитов, чувствительных к своим активаторам. Среди них могут быть Т-лимфоциты, В-лимфоциты или антигенспецифические лимфоциты. В ходе стимуляции реагирующие лимфоциты дифференцируются и переходят в бластные формы, которые после окрашивания определяют методом световой микроскопии. Бластные клетки имеют большое базофильное ядро, окруженное узким кольцом цитоплазмы. Количество таких клеток подсчитывают.

Также широко используется радиометрический метод учета РБТЛ, где регистрируется усиление синтеза ДНК в стимулированных клетках по включению в ДНК радиоактивно меченого ^3H -тимидина.

Примером *T-клеточного митогена* является *фитогемагглютинин (ФГА)*. На ФГА реагирует 40-70% лимфоцитов.

Бактериальный липополисахарид (ЛПС) является мощным митогеном для *В-клеток*; на него отвечает около 15-25% лимфоцитов.

Еще одним методом оценки функциональной активности клеток системы иммунитета является ***реакция подавления миграции лейкоцитов (РПМЛ)***.

Сущность ее в том, что в присутствии антигенов лимфоциты выделяют цитокины (лимфокины), в частности, фактор, подавляющий миграцию нейтрофилов и макрофагов.

Техника постановки реакции заключается в следующем: к взвеси лейкоцитов добавляют специфический антиген и заполняют ею капиллярные трубочки. Одновременно ставят контрольные пробы без антигена или с посторонним антигеном. Эти капилляры помещают в камеры или лунки, заполненные питательной средой. После инкубации при 37°C в течение 18 часов измеряют зону миграции клеток из капилляров или подсчитывают их количество в лунке. Если есть иммунные клетки (т.е. организм сенсibilизирован к антигену), то миграция лейкоцитов подавляется.

В настоящее время функциональная активность любой клеточной субпопуляции определяется методом ***проточной цитометрии*** после инкубации лейкоцитов со специфическими индукторами (цитокинами, митогенами, антигенами, сигнальными молекулами). Регистрация результатов здесь осуществляется по изменению экспрессии рецепторов на мембранах активированных клеток, по усилению синтеза нуклеиновых кислот в лейкоцитах в реакции с флюоресцентными красителями или по включению в

клетку флюоресцентно меченых зондов для белков или нуклеиновых кислот.

Определение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови и других биологических жидкостях

Продукты В-лимфоцитов – иммуноглобулины различных классов – играют важнейшую роль в гуморальном иммунитете.

Концентрацию клинически значимых классов иммуноглобулинов (*G, M, A, E*) определяют методом **иммуноферментного анализа (ИФА)** в реакции с антителами против соответствующего класса иммуноглобулинов человека, мечеными высокоактивным ферментом (чаще всего – пероксидазой). Метод ИФА отличается очень высокой чувствительностью и специфичностью. Он позволяет установить точную концентрацию всех классов ИГ в сыворотке, включая IgE, содержащийся в очень малых количествах (у взрослых лиц – приблизительно 0,05-0,25 мкг/мл сыворотки). Также методом ИФА определяют секреторный IgA (sIgA) в других биологических жидкостях (ротовой жидкости, бронхиальном отделяемом и т.д.).

Ранее для определения классов ИГ, содержащихся в сыворотке в сравнительно высокой концентрации (IgG, IgA, IgM), активно использовался метод **радиальной иммунодиффузии в агаре**, известный как **реакция преципитации по Манчини** (см. раздел «Реакции преципитации»). Концентрацию IgE таким методом определить невозможно из-за его низкого содержания в сыворотке.

Гораздо более чувствительным, быстрым и объективным методом определения концентрации иммуноглобулинов, основанном на механизме преципитации с образованием иммунных комплексов в растворе, является **иммунотурбидиметрия** и **лазерная нефелометрия**. В этом случае реакцию сывороточных иммуноглобулинов с антииммуноглобулиновыми АТ оценивают **турбидиметрическим методом** (по увеличению поглощения пробы) или **нефелометрией** (по рассеиванию света) вследствие образования иммунных комплексов в растворе.

При иммунодефицитах уровень иммуноглобулинов снижается (гипогаммаглобулинемия), а при стимуляции системы иммунитета и воспалении – закономерно повышается (гипергаммаглобулинемия).

Характеристика системы гранулоцитов и моноцитов, оценка фагоцитоза

Общее количество гранулоцитов и моноцитов в крови определяется подсчетом *лейкоцитарной формулы* крови.

Далее оценивают различные механизмы, фагоцитарной активности. Поглощение и переваривание бактерий определяют путем инкубации культуры лейкоцитов со стандартизированной взвесью микроорганизмов с последующей окраской по Романовскому-Гимзе и световой микроскопией. Для этого готовят 3 пробы; инкубируют при 37°C 1-ю пробу 45 мин, 2-ю – 60 мин, 3-ю – 90 мин.

Определяют *фагоцитарное число* и *фагоцитарный индекс*.

Фагоцитарное число – это среднее количество частиц или микроорганизмов, поглощенное одним фагоцитом (ориентировочная норма для стафилококков – 5-10 клеток, кандид – 2-4).

Фагоцитарный индекс – это доля фагоцитов, участвующих в фагоцитозе (клеток, имеющих поглощенные частицы). Их норма составляет 60-80%.

Оценка показателей через разные промежутки времени позволяет оценить динамику фагоцитоза. При нормальной активности фагоцитов через 90 мин фагоцитарный индекс должен быть ниже, чем через 45 мин и 60 мин, в связи с перевариванием микробов. При нарушении переваривания он не меняется.

Переваривание микробов можно оценивать путем посева лизатов лейкоцитов после инкубации с микробами на питательные среды и подсчетом выросших колоний. Метод предполагает использование в качестве объекта фагоцитоза живых микроорганизмов. После инкубации с микробами фагоциты осаждают центрифугированием, отмывают и лизируют. Их лизаты высевают на твердую питательную среду. Переваривающую активность фагоцитов оценивают по числу выросших колоний.

Метаболическую активность фагоцитов (*дыхательный взрыв*) определяют в *тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест)* после окраски их раствором красителя НСТ.

В процессе фагоцитоза активируются окислительно-восстановительные процессы внутри фагоцита (*дыхательный взрыв*), приводящие к восстановлению растворимого красителя *нитросинего тетразолия* в нерастворимый формазан. В результате в цитоплазме фагоцитов (нейтрофилов) выпадают глыбки нерастворимого

формаза синего цвета. В ходе последующей микроскопии подсчитывают количество формазан-положительных клеток.

В отсутствие патологии обнаруживается 15-18% формазан-позитивных нейтрофилов, при инфекциях их число увеличивается до 40% и более.

Показатели фагоцитоза снижаются при соответствующих иммунодефицитах и нарастают при благоприятном течении инфекции.

Дополнительно на фагоцитах определяют маркеры активации, адгезины (CD14, CD11, CD18, HLA-DR и др.), рецепторы к С3-компоненту комплемента, Fc-рецепторы к иммуноглобулинам методом иммунофлюоресценции и проточной цитометрии.

Также оценивают хемотаксис фагоцитов и определяют их способность секретировать цитокины (ИЛ-1, ФНО α и др.).

Оценка гуморальных факторов неспецифической резистентности и характеристика системы комплемента

Концентрацию любых растворимых молекулярных факторов в системе иммунитета (гуморальный иммунитет) возможно установить **методом иммуноферментного анализа (ИФА)**. Это определяется высокой чувствительностью и специфичностью ИФА в молекулярном иммуноанализе.

Данное положение относится и к определению концентрации гуморальных факторов неспецифической резистентности, и к определению концентрации всех компонентов системы комплемента в биологических жидкостях.

Среди гуморальных факторов, присутствующих в сыворотке крови, оценивают содержание **белков острой фазы воспаления**. К клинически значимым факторам относятся **С-реактивный белок** или **СРБ**, маннозосвязывающий лектин (**МСЛ**), **альфа-2-макроглобулин**, **церулоплазмин**, **ферритин**, **фибриноген** и некоторые другие.

Также определяют сывороточную концентрацию фибронектина, лактоферрина, лизоцима, при необходимости – содержание цитокинов и антимикробных пептидов (дефензинов, цистатинов, гистатинов и др.).

При **оценке состояния системы комплемента** определяют концентрации основных фракций методом ИФА. Содержание

ведущих компонентов комплемента значительно варьирует (C1s – 0,12 г/л, C4 – 0,4 г/л, C3 – 1,3 г/л, C9 – 0,16 г/л и т.д.).

Функциональная активность системы комплемента (литическое действие) оценивается в **реакции гемолиза**.

В данной реакции используется гемолитическая система. Она состоит из эритроцитов барана, обработанных гемолитической сывороткой. Гемолитическая сыворотка содержит специфические антитела (гемолизины), направленные к антигенам эритроцитов барана.

Оценка функциональной активности комплемента основана на его способности вызывать лизис эритроцитов, покрытых антителами. По интенсивности гемолиза судят о гемолитической активности комплемента.

В качестве единицы измерения комплемента используется **гемолитическая единица (CH50)** – количество комплемента, вызывающее 50%-ный лизис 3% суспензии обработанных антителами эритроцитов при температуре 37°C в течение 45 мин.

Степень гемолиза при титровании комплемента можно определять фотометрическими методами (с помощью спектрофотометра, фотоколориметра, нефелометра) или же визуально путем сравнения интенсивности гемолиза в опытных пробирках со стандартной шкалой лизированных эритроцитов.

При тяжелых формах инфекционных заболеваний первоначальный рост активности системы комплемента сменяется ее угнетением с уменьшением концентрации основных фракций. Это обусловлено интенсивным образованием иммунных комплексов и усилением фагоцитоза, что приводит к потреблению компонентов комплемента. Аналогичные процессы могут наблюдаться при аутоиммунной патологии.

Серологические реакции и их практическое применение: общая характеристика серологических реакций

Данная группа иммунологических реакций оказалась исключительно удобной как для исследования любых сложных смесей **антигенов**, так и для обнаружения **антител** к ним. Серологические реакции (от лат. *serum* – сыворотка) можно охарактеризовать как процесс взаимодействия антигенов с антителами, протекающий *in vitro*.

Первоначально эти реакции были использованы для диагностики инфекционных заболеваний, а также в микробиологической практике. В настоящее время реакции, основанные на связывании антигена с антителом (**иммунохимический анализ**), применяются в любой области, где требуется идентификация неизвестных биологических структур и сравнительно сложных химических соединений.

В большинстве случаев взаимодействия АГ и АТ являются **высокоспецифичными**. Антитела могут различать очень сходные антигенные молекулы, в частности – даже выполнять стереоспецифическое распознавание нескольких изомерных форм одной и той же молекулы АГ.

Кроме того, эти взаимодействия **максимально чувствительны** – в современных вариантах реакций АТ выявляют комплементарные им АГ в нано- или пикомолярных концентрациях. Во многом это определяется использованием меченых реагентов – препаратов АГ или АТ, содержащих высокочувствительную метку (флюоресцентный краситель, фермент или радиоактивный изотоп).

Тем самым **высокая специфичность** и **чувствительность** серологических реакций обусловили их широкое применение в биологии и медицине.

Любое взаимодействие антигена с антителом является частным случаем **нековалентных** взаимодействий. Молекулы антигена и антитела реагируют по **принципу комплементарности** своими активными центрами (**эпитопы** АГ с **паратопами** АТ) и образуют **иммунные комплексы** различной структуры.

Принимая во внимание, что практически любая сложная молекула может выступать в роли антигена, огромное множество соединений может быть выявлено и исследовано благодаря другому компоненту реакции – специфическим антителам.

Серологические реакции обладают рядом **общих свойств**.

Оптимальное специфическое взаимодействие антител с антигеном происходит в **изотоническом** растворе NaCl при pH, близким к **нейтральному**, и при температуре 37°C.

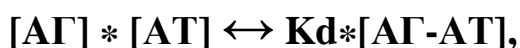
Связь между антигеном и антителом в образовавшемся комплексе прочная, но **обратимая**. Комплексы «антиген-антитело» могут диссоциировать на составные компоненты без изменения свойств. Диссоциация происходит быстро при снижении pH до 2-3 или повышении pH до 9-10. Диссоциации способствует высокая ионная сила раствора (концентрация солей).

Само взаимодействие «АГ-АТ» протекает в **2 фазы**.

Первая фаза *специфическая* – фаза взаимодействия, в которой происходит комплементарное соединение активных центров антител и эпитопов антигена; обычно эта фаза длится несколько секунд или минут.

Вторая фаза *неспецифическая* – фаза проявления, характеризуется внешними признаками образования иммунных комплексов; может развиваться от нескольких минут до нескольких часов (в среднем – 30-60 мин).

Обратимое взаимодействие между АГ и АТ в точке равновесия (точнее, взаимодействие одинаковых эпитопов с паратопами) подчиняется закону действующих масс реагирующих веществ и описывается уравнением:



где антиген (АГ), антитело (АТ) и иммунный комплекс (АГ-АТ) представлены своими концентрациями, а K_d представляет собой константу диссоциации комплекса

Тем самым конечный результат реакции (образование иммунного комплекса) зависит от концентрации антигена и антитела. Исходя из этого, неизвестное количество АГ или АТ можно установить по другому известному реагенту.

В серологических реакциях участвуют *поливалентные* АГ и АТ. Вследствие этого в ходе реакции возникают видимые невооруженным глазом крупные агрегаты иммунных комплексов. Из-за многовалентности АГ и АТ к образовавшемуся комплексу последовательно присоединяются другие молекулы антител и антигенов, реагируя с еще незанятыми активными центрами АГ и АТ (эпитопами и паратопами). В результате формируются сетевые решетчатые структуры, которые превращаются в агрегаты, выпадающие в осадок. Характер и выраженность реакции зависят от количественного соотношения антигенов и антител. Наиболее интенсивно и быстро реакции проявляются в том случае, если реагенты находятся *в эквивалентном соотношении*.

Агрегаты, способные выпадать в осадок, образуются при соединении антигенов с полными многовалентными антителами. *Неполные* антитела (*моновалентные*) не вызывают образования сетевых структур и крупных агрегатов. Для выявления таких антител используют специальные методы, основанные на использовании антииммуноглобулинов (см. реакцию Кумбса).

Для **полуколичественной** (относительной) **оценки** содержания антител или антигенов в изучаемых образцах используют ряды их последовательных разведений (чаще всего двукратных) с уменьшающейся концентрацией. Второй реагент обычно добавляется в одной стандартной концентрации. Проведение реакции позволяет установить показатель, характеризующий относительное количество неизвестного реагента – *титр АТ* или *АГ*.

Титром неизвестного антитела или **антигена** в серологической реакции называется **последнее** (максимальное) **разведение** антитела либо антигена, дающее отчетливый положительный результат данной серологической реакции.

Титр соответствует *минимальной концентрации* АТ или АГ, которая еще способна регистрироваться в стандартных условиях эксперимента.

Сам процесс выполнения серологической реакции с разведением реагентов и определением их титра получил название **титрование** антитела или антигена.

Задачи серологических реакций и иммунореагенты для их проведения

В любой серологической реакции неизвестный компонент (АГ или АТ) определяется по известному второму компоненту (АТ или АГ).

Исходя из этого, при проведении серологических реакций обычно решается **две задачи**:

1) с помощью известной сыворотки, содержащей специфические антитела, в биологических жидкостях **выявляют антиген (идентификация антигена)**;

2) с помощью известного антигена определяют **специфические** к нему **антитела** в сыворотке крови больного человека (**серодиагностика** заболевания или **постановка серологического диагноза**).

В современных условиях серодиагностика имеет самое широкое применение в клинике. В большинстве случаев установление серологического диагноза заболевания (серодиагностика) означает лабораторную диагностику инфекционной болезни путем определения в сыворотке пациента специфических антител, направленных против антигенов возбудителя.

Иногда для серодиагностики используют выявление специфических антигенов в сыворотке или других биологических жидкостях человека.

Для определения любого неизвестного антигена (бактерии, вируса, неизвестного белка и др.) используют **диагностические иммунные сыворотки** (антисыворотки), содержащие **антитела**.

Иммунные сыворотки получают путем **многократной иммунизации лабораторных животных** (например, кроликов) соответствующими антигенами. В настоящее время их дополнительно очищают для получения чистых препаратов диагностических АТ.

Иммунизация осуществляется в соответствии со специальными протоколами, принимая во внимание дозы антигена и интервалы между его введениями.

В свою очередь, обнаружение антител проводят с использованием специальных антигенных препаратов – **диагностикумов**.

Это очень широкая группа иммунореагентов. Их структура и происхождение зависят от иммунной реакции, в которой они принимают участие.

Часто они представляют собой взвесь **известных инактивированных** («убитых») **микроорганизмов** – **бактерий** или вирусов. Более сложные антигенные диагностикумы являются частицами с привитыми к их поверхности антигенами (эритроцитарные диагностикумы, латексные диагностикумы и др.).

Молекулярные фракции антигенов получают путем разрушения возбудителей, используя различные методы экстракции, обработку ферментами и различными детергентами, центрифугирование, ультрафильтрацию, методы хроматографии.

Как уже упоминалось выше, в наиболее чувствительных серологических реакциях применяются **меченые иммунореагенты**. Для этого в диагностические препараты АГ или АТ вводят высокочувствительную метку (флюоресцентный краситель, фермент или радиоактивный изотоп).

Классификация серологических реакций

В соответствии с их механизмами и методами регистрации, серологические реакции классифицируются на следующие основные группы.

1. Реакции агглютинации.
2. Реакции преципитации.
3. Реакции нейтрализации (токсинов бактерий, вирусов).
4. Реакции лизиса (бактериолиза, гемолиза, реакция связывания комплемента).
5. Реакции с мечеными реагентами (реакция иммунной флюоресценции, иммуноферментный анализ, радиоиммунный метод, вестерн-блоттинг, иммунохроматография и т.д.).

Реакции агглютинации (РА)

Реакция агглютинации (лат. *agglutinatio* – склеивание) представляет собой процесс связывания (или «склеивания») антителами **корпускулярных** антигенов с конечным выпадением осадка-агглютината.

Реагентами для реакции агглютинации являются специфические би- или поливалентные антитела (**агглютинины**) и **антигены в виде частиц** (микробные клетки, эритроциты и другие корпускулярные антигены), содержащие множество эпитопов (**агглютиногены**).

В зависимости от вида используемого корпускулярного иммунодиагностикума различают реакцию микробной агглютинации, гемагглютинации, латекс-агглютинации и т.д.

Механизм и внешние проявления реакции агглютинации определяются, с одной стороны, **корпускулярной** природой и **многовалентностью** антигена; с другой стороны, агглютинирующие антитела также должны быть **поливалентными**, т.е. иметь два или более активных центра (паратопа). Агглютинация или склеивание двух частиц (например, микробных клеток) возможны только тогда, когда два активных центра одного и тех же антитела связываются с двумя различными бактериальными клетками. В этом случае антитело образует «мостик», соединяющий две частицы. Многовалентность АТ и АГ обеспечивает дальнейшее увеличение иммунного комплекса с образованием осадка.

Если АТ взаимодействуют с агглютиногеном – природным компонентом частицы-носителя, то это **прямая реакция агглютинации**. Примером таких АГ являются многочисленные

бактериальные антигены, входящие в состав микробной клетки или антигены групп крови АВО на эритроцитах.

Если же в реакции агглютинации участвуют АГ, **искусственно присоединенные** к частице-носителю химическим или иным способом, то происходит их **непрямая** или **пассивная** агглютинация. Таким образом, например, для реакции пассивной гемагглютинации получают эритроцитарные диагностикумы с адсорбированными молекулами антигенов на эритроцитах-носителях.

Для клинических целей реакцию агглютинации проводят в двух вариантах: определяют вид выделенного от пациента микроба-возбудителя с помощью диагностической агглютинирующей сыворотки (**серологическая идентификация микроба**) и выявляют антитела в сыворотке больного, используя стандартный микробный или иной диагностикум (**серодиагностика заболевания, постановка серологического диагноза**).

Реакция прямой микробной агглютинации

В этих реакциях антитела (агглютинины) непосредственно связывают взвесь бактериальных клеток, содержащих антигены (агглютиногены).

Для определения вида микроорганизмов используют стандартные **диагностические агглютинирующие сыворотки**, содержащие **антитела**. Их получают **гипериммунизацией** лабораторных животных (чаще кроликов) взвесью бактерий определенного вида.

Титром агглютинирующей сыворотки является ее **наибольшее разведение**, при котором наблюдается отчетливая агглютинация данной бактериальной культуры.

Однако из-за сложности антигенной структуры бактерий, агглютинирующие сыворотки содержат антитела не только к видоспецифическим, но и к групповым антигенам, и могут давать групповую перекрестную агглютинацию с родственными видами бактерий.

Для удаления группоспецифических антител в сыворотку последовательно добавляют клетки различных видов бактерий, в состав которых входят групповые антигены (**метод Кастеллани**). После адсорбции в агглютинирующей сыворотке остаются только видоспецифические АТ. Таким методом получают **адсорбированные**

сыворотки, которые содержат антитела, специфичные к определенному виду микроба.

Варианты реакции микробной агглютинации

Наиболее распространенными являются пластинчатая РА на стекле и развернутая РА в пробирках или планшетах.

В *пластинчатой РА* обычно используют сыворотки с высокой концентрацией АТ (в малом разведении).

РА на стекле применяют как *ускоренный ориентировочный* метод идентификации бактерий или выявления антител.

На стекло наносят каплю сыворотки, в которую петлей вносят неизвестную культуру бактерий, перемешивают и через 2-3 минуты наблюдают появление мелкозернистой или хлопьевидной агглютинации. Для контроля используют каплю физиологического раствора, в которой после внесения бактерий наблюдается гомогенное помутнение. Адсорбированные сыворотки позволяют сразу провести идентификацию микроорганизмов.

Развернутую РА проводят в пробирках или лунках планшетов. При этом диагностическую сыворотку разводят до титра и вносят одинаковые количества антигена (микробных клеток). При положительном результате осадок выстилает дно пробирки в виде «зонтика», при отрицательном – свободно оседает на дно в виде точки или «пуговицы». Поскольку титры группоспецифических антител в сыворотке значительно ниже, чем титр видоспецифических АТ, групповые реакции наблюдаются лишь в небольших разведениях сыворотки. Если агглютинация происходит до титра или до половины титра сыворотки, она является видоспецифической.

Для *определения антител* в сыворотке больного человека (*серодиагностика*) используют стандартный *микробный диагностикум*, содержащий взвесь известных микробов с их антигенами, и сыворотку от пациента. В этом случае обычно ставят развернутую РА.

Если титр антибактериальных АТ, обнаруженный в сыворотке, *равен или превышает диагностический титр*, заранее установленный для АТ при данном заболевании, то РА *положительна* и подтверждает этиологический диагноз инфекционного заболевания.

Определение специфических антимикробных антител в реакции агглютинации играет существенную роль в диагностике брюшного

тифа и паратифов (реакция агглютинации *Видаля*), бруцеллеза (реакция Райта), лептоспироза, туляремии и других заболеваний.

Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и другие методы непрямой агглютинации

Кроме прямых реакций, в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний используются методы непрямой или пассивной агглютинации. Пассивная агглютинация обычно применяется для выявления антител к антигенам, не имеющим корпускулярной структуры (например, к растворимым белкам).

При непрямой агглютинации антиген предварительно адсорбируют на корпускулярном носителе природного или искусственного происхождения (эритроциты животных, частицы латекса, полистирола или других полимеров).

Одним из вариантов непрямых методов является **реакция пассивной гемагглютинации (РПГА)**.

В РПГА в качестве носителя используют эритроциты. Механизм реакции заключается в том, что нагруженные антигеном эритроциты склеиваются (агглютинируются) в присутствии специфических антител к данному антигену (рис. 9.1.) и выпадают в осадок на дно лунки планшета в виде «зонтика».

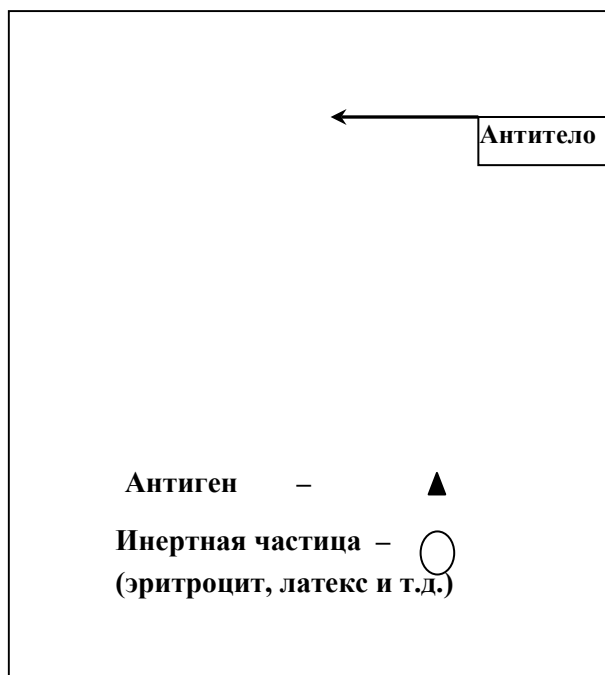


Рис 9.1. Реакция пассивной гемагглютинации

Эритроциты с присоединенным к ним антигеном представляют собой **эритроцитарный антигенный диагностикум**. Он используется для обнаружения антител в сыворотке больного (серодиагностика, установление серологического диагноза). При этом РПГА весьма чувствительна, и позволяет обнаруживать антитела в больших разведениях (титрах).

Данный вариант метода используется в клинической практике наиболее часто. Например, его применяют для нахождения анти-Vi-антител в сыворотках носителей сальмонелл брюшного тифа. В этой реакции участвует эритроцитарный брюшнотифозный Vi-диагностикум.

Если же к эритроцитам присоединить специфические антитела (**эритроцитарный антительный диагностикум**), то такой метод иногда применяют для выявления растворимых антигенов. В частности, с его помощью определяли бактериальные экзотоксины при дифтерии, ботулизме или газовой гангрене. В настоящее время вместо этой методики обычно используют иммуноферментный анализ.

Современные вариации непрямых тестов агглютинации включают латекс-агглютинацию, агглютинацию наночастиц коллоидного золота и другие методы. Количественное определение начальных уровней агглютинации можно проводить с помощью лазерной нефелометрии.

Эти реакции более совершенны и обладают высокой чувствительностью и специфичностью.

Реакция Кумбса. Определение неполных антител

Реакция (проба) Кумбса основана на принципе гемагглютинации. Ее используют для выявления антиэритроцитарных АГ. При этом реакция Кумбса позволяет выявлять **неполные АГ**, связывающиеся с мембранами эритроцитов.

В молекуле неполных антител активен лишь один антигенсвязывающий центр. Такие АГ связываются с эритроцитами или другими АГ, но *не вызывают их агглютинации*.

Неполные АГ появляются при различных патологических состояниях. Обнаружены неполные антиэритроцитарные АГ против резус-антигенов (RhD) эритроцитов человека, аутоАГ при СКВ и ревматоидном полиартрите, противои инфекционные АГ у пациентов с

бруцеллезом, сифилисом и другими заболеваниями. Данные АТ могут вызывать тромбоцитопению, гемолитическую анемию, лейкопению.

Выявление неполных АТ играет роль в предотвращении нежелательных реакций при переливании крови (гемотрансфузионных осложнений), а также позволяет предупредить **резус-конфликт**, обуславливающий развитие *гемолитической болезни новорожденных*. Причиной данной патологии является появление анти-резус-АТ у резус-отрицательных женщин. Чаще всего анти-резус антитела образуются у них после первых родов или после аборта, если плод был резус-положительным. В процессе родов происходит контакт системы иммунитета матери с (Rh+)-кровью новорожденного, что стимулирует образование антиэритроцитарных анти-резус-АТ. Для индукции образования таких антител достаточно минимального количества (Rh+) крови – 0,1-0,5 мл.

К резус-антигенам у беременных вырабатывается два вида антител: полные многовалентные анти-резус-агглютинины и неполные анти-резус-АТ, не способные вызывать агглютинацию (Rh+) эритроцитов.

Накопление анти-резус-АТ у женщин происходит при повторной беременности с (Rh+)-плодом. Эти антитела класса IgG проникают через плацентарный барьер и попадают в кровоток плода. Они вызывают повреждение эритроцитов плода по цитотоксическому механизму, в результате чего у плода развивается гемолитическая анемия, приводящая к гемолитической болезни новорожденных.

С целью диагностики данных состояний применяют *прямую и непрямую реакцию Кумбса*.

Для выполнения пробы Кумбса требуется **антиглобулиновая сыворотка**, которую получают путем **иммунизации животного** (кролика) **иммуноглобулинами человека**. Такая сыворотка содержит полные (бивалентные) антитела-**антииммуноглобулины** (рис 9.2.) Они способны к агглютинации.

Прямая реакция выявляет уже **адсорбированные на эритроцитах** неполные и полные АТ. Для этого к отмытым эритроцитам, полученным из крови больного, добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. Исследуется кровь пациента с гемолитической анемией, кровь плода или пуповинная кровь новорожденного ребенка. Если с эритроцитами связаны антиэритроцитарные антитела (иммуноглобулины), то эритроциты агглютинируются антииммуноглобулиновой сывороткой.

Механизм реакции основан на том, что одна молекула антиглобулинового реагента одновременно взаимодействует с двумя молекулами АТ, адсорбированных на поверхности двух различных эритроцитов, что приводит к гемагглютинации.

Непрямая реакция Кумбса выявляет **свободные антиэритроцитарные антитела**, присутствующие в сыворотке крови.

При постановке реакции к сыворотке, полученной от обследуемого, добавляют отмытые эритроциты донора О(І) группы крови. Смесь инкубируют при 37°С в течение 30 минут и затем отмывают эритроциты от неспецифически связавшихся белков. Если в сыворотке присутствовали неполные антиэритроцитарные антитела, то они остаются связанными с мембранами эритроцитов. Далее к эритроцитам добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. При положительном результате наблюдается гемагглютинация.

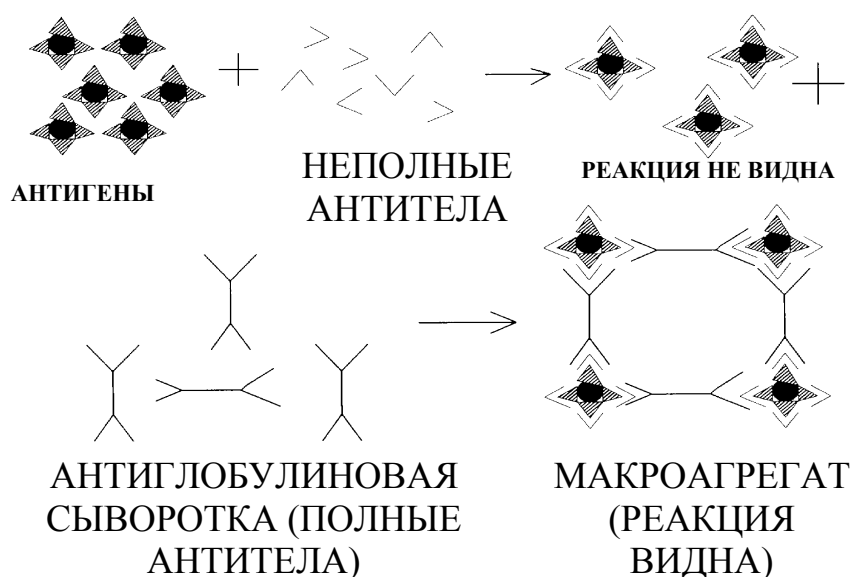


Рис. 9.2. Реакция Кумбса

Непрямая проба Кумбса используется в клинике для обнаружения неполных анти-резус антител у беременных и при тестировании крови донора и реципиента перед гемотрансфузией.

Реакции преципитации

В основе реакций преципитации лежит взаимодействие антигена и специфического антитела в коллоидном *растворе* с образованием и выпадением *в осадок* комплексов «антиген-антитело».

В реакции преципитации участвуют *растворимые антигены* – *преципитиногены*, обычно представленные в молекулярной форме (продукты микроорганизмов, тканей, химические вещества и лекарства и др.). *Антитела (преципитины)*, соединяясь с растворимыми антигенами, вызывают их агрегацию, что проявляется в помутнении прозрачных жидкостей или выпадении осадка (преципитата).

Механизм и внешние проявления преципитации зависят от природы растворимого антигена, который должен содержать множество эпитопов (многовалентная структура). С другой стороны, антитела-преципитины также должны быть *поливалентными* с двумя и более активными центрами. В этом случае связывание двух различных молекул антигена происходит через «мостик» одной молекулы антитела. В целом данный механизм аналогичен реакции агглютинации. Постоянное увеличение комплекса с включением в него новых АТ и АГ приводит к видимым проявлениям реакции (образование нерастворимого осадка-преципитата).

Диагностические преципитирующие сыворотки выпускают с высоким титром антител. Их получают путем иммунизации лабораторных животных соответствующим антигеном. Титром преципитирующей сыворотки является ее максимальное разведение, дающее видимую реакцию преципитации

Различают несколько *вариантов* реакции преципитации.

Реакция *кольцепреципитации* выполняется в пробирке. При этом прозрачный фильтрат антигена (коллоидный раствор), наслаивается на прозрачную преципитирующую сыворотку. На границе реагирующих компонентов в пробирке быстро появляется белое кольцо помутнения (*кольцепреципитация*).

Данную реакцию используют в судебно-медицинской практике с целью определения видовой принадлежности пятен крови и других биологических жидкостей, в санитарно-гигиеническом тестировании пищевых продуктов – выявление фальсификации мясных, рыбных или мучных изделий и т.д.

Разновидностью кольцепреципитации является реакция *термопреципитации по Асколи*. Ее используют для диагностики

сибирской язвы. Метод выявляет термостабильные АГ возбудителя сибирской язвы в органах и тканях погибших животных, а также в образцах инфицированного сырья (кожа, шерсть и т.д.). Антигены получают путем кипячения материала с последующей фильтрацией.

Быстрым и чувствительным методом с минимальным расходом реагентов является реакция **микропреципитации в капилляре**. Объем реакционной смеси здесь составляет несколько микролитров. С ее помощью, например, определяют содержание С-реактивного белка в сыворотке крови.

Вариантом *микропреципитации в планшете* является методика обнаружения АТ к кардиолипиновому АГ при сифилисе.

Чувствительность реакции преципитации в жидкой среде можно значительно повысить, используя современные методы регистрации результатов реакции – имунотурбидиметрию и лазерную нефелометрию.

Еще одна группа методов серологического анализа основана на реакции **преципитации в геле**.

Один из таких методов – **двойная иммунодиффузия в агаровом геле по Оухтерлони**. Здесь антиген и антитело помещают в отдельные лунки, вырезанные в агаре. После начала инкубации содержимое лунок диффундирует в агаре навстречу друг другу. Когда специфические АГ и АТ встречаются между лунками в эквивалентных концентрациях, в геле образуется **линия преципитации**. Данный метод используется как для выявления неизвестных антигенов, так и для одновременного исследования нескольких образцов антител.

Иммунопреципитация в геле лежит в основе реакции **простой радиальной иммунодиффузии по Манчини**, которая применяется для определения основных **классов иммуноглобулинов (G, A, M)** в сыворотке крови.

Для этого на одну стеклянную пластинку наливают агар, смешанный с антителами против IgG человека; на вторую пластинку – с антителами против IgA, на 3-ю – против IgM. После застывания в агаре делают ряды лунок диаметром 2 мм. В один ряд лунок каждой пластины вносят стандартную сыворотку с известной концентрацией IgG, IgA, IgM. В другие лунки добавляют исследуемые сыворотки крови больных.

Иммуноглобулины диффундируют из лунок, и на месте встречи с антителами, которые находятся в агаре, образуются круговые зоны преципитации. Диаметр этих зон зависит от концентрации ИГ – чем

больше концентрация ИГ, тем больше диаметр. Измеряют диаметр зон преципитации для разведений стандартной сыворотки, и по ней строят калибровочный график зависимости диаметра кольца преципитации от количества ИГ в сыворотке крови. Затем измеряют диаметр зон преципитации в пробах сывороток больных, и по калибровочному графику определяют в сыворотках концентрацию соответствующего класса иммуноглобулина.

Метод **иммуоэлектрофореза** сочетает в себе электрофорез в агаровом геле с иммунодиффузией. Электрофорез здесь выполняется на первом этапе эксперимента. Он применяется для разделения сложной смеси белков под действием электрического поля. После электрофореза положение антигенных фракций в геле идентифицируется с помощью иммунодиффузии. Для этого в геле вырезают канавку вдоль всей линии движения антигенов. В канавку помещают сыворотку со специфическими антителами к одному или нескольким АГ. Разделенные электрофорезом антигены диффундируют навстречу антителам из канавки, и в месте их встречи образуются полосы преципитации. Каждый антиген дает индивидуальную линию преципитации. Метод позволяет обнаруживать отдельные фракции и компоненты в сложных смесях антигенов (тканевые экстракты, сыворотка и т.д.).

Реакция нейтрализации токсина антитоксином

Многие бактерии вырабатывают высокоактивные экзотоксины, играющие решающую роль в патогенезе инфекций (*C. botulinum*, *C. tetani*, *B. anthracis*, *C. diphtheriae* и другие).

Антитоксины – это специфические антитела, которые связываются с микробными токсинами и нейтрализуют их.

В реакции нейтрализации определяют как сам токсин, так и силу антитоксической сыворотки.

Экзотоксины получают после культивирования токсигенных бактерий в жидкой питательной среде с последующей фильтрацией.

Анатоксин – это обезвреженный формалином экзотоксин, лишенный ядовитых свойств, но сохранивший антигенные. Его также возможно использовать в реакции нейтрализации как аналог экзотоксина.

Антитоксические сыворотки (антитоксины) получают из крови животных (обычно лошадей), гипериммунизированных токсином

и/или анатоксином. Также антитоксические антитела могут быть получены из сыворотки крови человека – от доноров, иммунизированных анатоксинами.

Реакция нейтрализации токсинов включает в себя целую группу серологических и биологических методов с общим конечным результатом – специфические антитела блокируют активность токсина. Для оценки реакции используются различные модели (лабораторные животные, клеточные культуры, серологические тесты и т.д.).

Вариантом метода нейтрализации в условиях *in vitro* является **реакция флоккуляции**. Данная серологическая реакция развивается по механизму *реакции преципитации*.

Реакция флоккуляции применяется для определения силы антитоксических сывороток. Одна международная единица (1 МЕ) антитоксической сыворотки (антител) представляет собой дозу сыворотки, которая нейтрализует эквивалентное количество токсина.

Для титрования антитоксина методом флоккуляции используют экзотоксин с известной активностью. Его добавляют в стандартном количестве в пробирки с различными разведениями антитоксической сыворотки. После инкубации самая быстрая «начальная» флоккуляция (формирование мутных агрегатов) появляется в пробирках, где количество антитоксической сыворотки и токсина эквивалентно.

Для оценки **токсигенности бактериальных культур** (например, коринебактерий дифтерии) используется реакция **нейтрализации в агаре**. Реакция основана на взаимодействии антитоксической сыворотки и экзотоксина, который вырабатывают бактерии в процессе их роста.

Для этой цели стерильную полоску фильтровальной бумаги, пропитанной антисывороткой против дифтерийного токсина, помещают в центр чашки Петри. Испытуемые культуры засевают перпендикулярно полоске с антитоксической сывороткой. Если микробная культура продуцирует экзотоксин, он диффундирует в агар и при встрече с антителами образует полосу преципитации.

В иммунологии и микробиологии также используют вариант реакции нейтрализации на лабораторных животных. В этом случае смесь токсина и антитоксической сыворотки вводят экспериментальной группе животных (например, мышам). Контрольной группе животных вводится только экзотоксин. В случае нейтрализации токсина антителами в опытной группе животные выживают, а в контрольной группе погибают из-за действия экзотоксина.

Антитоксические сыворотки с известной активностью широко применяются в терапии инфекций, вызванных токсигенными бактериями (при ботулизме, столбняке, дифтерии, газовой гангрене), а также для лечения укусов змей.

Реакции нейтрализации вирусов

Данные виды реакций используют для **серологической идентификации вирусов** (*определение серотипа* вируса). Для этого к исследуемому материалу, содержащему неизвестный вирус, добавляют типоспецифическую противовирусную сыворотку. После инкубации эту смесь вводят либо в *куриный эмбрион*, либо в *культуру клеток*, либо *лабораторному животному*.

Наиболее распространена **реакция нейтрализации цитопатического действия вируса в культуре клеток**. Здесь в культуральную среду добавляется индикатор. Если антитела соответствуют вирусу (нейтрализуют его), то клеточная культура развивается нормально. При этом происходит выделение кислых продуктов клеточного метаболизма, рН среды снижается, и индикатор изменяет свой цвет. В контроле вирус быстро разрушает клеточную культуру (оказывает цитопатическое действие), рН не меняется, и цвет среды остается прежним.

На этом же принципе основана реакция ингибции метаболизма для идентификации микоплазм.

Реакции лизиса

Серологические реакции лизиса протекают с участием комплемента и заканчиваются литическим разрушением чувствительных клеток.

К ним относятся реакции бактериолиза, гемолиза и реакция связывания комплемента.

Сущность данных реакций состоит в том, что при взаимодействии специфических антител с антигенами клеток (эритроцитов, бактерий, лейкоцитов), на их поверхности образуется комплекс, который активизирует добавленный в реакцию компонент по классическому пути, вследствие чего наступает лизис этих клеток.

Большинство реакций лизиса трудоемки, длительны, чувствительность их сравнительно невысока. Поэтому многие из них в настоящее время представляют только исторический интерес.

В частности, многие бактерии устойчивы к литическому действию комплемента, или их лизис происходит медленно. Отсюда реакция иммунного лизиса бактерий (**реакция бактериолиза**) в настоящее время применяется редко.

Реакция гемолиза применяется для определения литической активности системы комплемента (см. раздел «Характеристика системы комплемента»), а также как составляющая в реакции связывания комплемента (РСК).

Сама же РСК по-прежнему используется в различных клинических ситуациях для выявления АТ к возбудителям ряда заболеваний.

Реакция связывания комплемента (РСК)

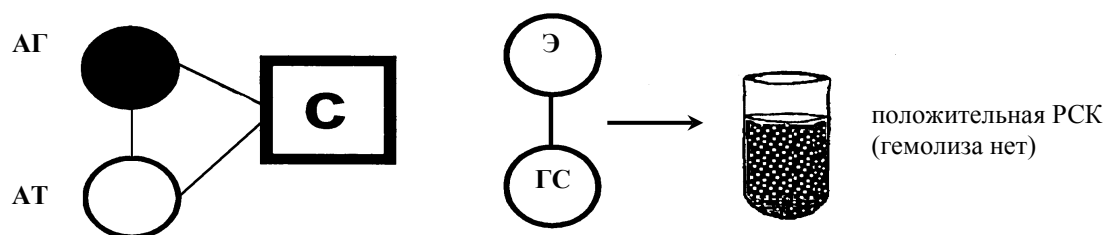
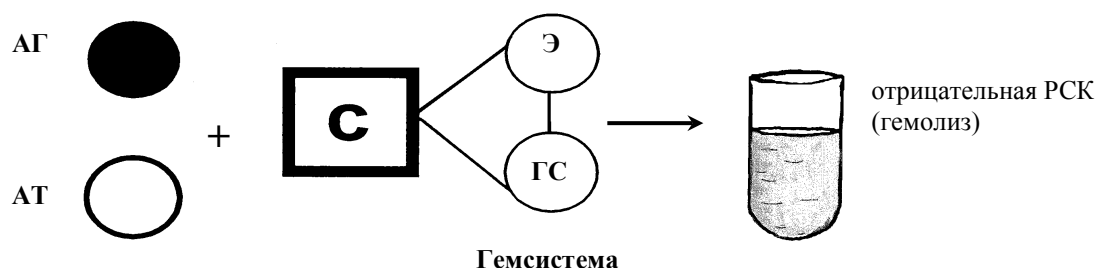
В РСК помимо антигена и антител принимает участие комплемент, который способен связываться с комплексом «антиген-антитело». РСК позволяет выявлять как антитела с помощью известных антигенов (*серодиагностика*), так и антигены. Последний вариант используется редко.

Образование комплексов «антиген-антитело» и фиксация комплемента (**специфическая система** реакции) не сопровождаются видимыми изменениями. Для обнаружения связывания комплемента используют дополнительную **индикаторную гемолитическую систему**.

Гемолитическая система состоит из эритроцитов барана, обработанных гемолитической сывороткой против этих эритроцитов барана. Гемолитическую сыворотку предварительно прогревают при 56°C 30 мин для разрушения ее собственного комплемента. Далее к гемолитической системе добавляют препарат комплемента (сыворотка морской свинки). В присутствии комплемента происходит лизис эритроцитов гемсистемы.

Принцип метода состоит в том, что если в опытной системе образовался комплекс «антиген-антитело», который связал добавленный комплемент, то **не будет лизиса эритроцитов** в индикаторной гемолитической системе (**РСК положительная**, обнаружен антиген или антитело). Если в опытной системе комплекс

«антиген-антитело» не формируется, комплемент остается свободным, взаимодействует с гемолитической системой и вызывает лизис эритроцитов (*есть гемолиз, РСК отрицательная*, см. рис 9.3.).



АГ – антиген; АТ – антитела; С – комплемент; Э – эритроциты барана; ГС – гемолитическая сыворотка. Объяснения в тексте.

Рис. 9.3. Схема реакции связывания комплемента

РСК лежит в основе *реакции Вассермана*, которая применяется для выявления антител при диагностике сифилиса. Также она используется для иммунодиагностики эпидемического сыпного тифа.

Методы, основанные на связывании меченых антигенов и антител

Реакции, использующие меченые антигены или антитела, являются наиболее чувствительными среди всех серологических реакций. В качестве меток для них применяют флюоресцентные красители, ферменты, радиоактивные изотопы.

Иммунофлюоресцентные методы

Прямой метод иммунофлюоресценции (МИФ) используется для обнаружения антигенов, которые присутствуют в клетках и тканях. Их выявляют при помощи АГ, меченых флюоресцентным красителем – **флюорохромом**. К настоящему времени разработано множество высокочувствительных флюорохромов, предназначенных для различных условий проведения реакции.

Одним из наиболее универсальных флюорохромов является **флюоресцеин изотиоцианат (ФИТЦ)**. Он дает зеленое свечение при возбуждении в ультрафиолетовых лучах. Группы современных красителей включают множество соединений, флюоресцирующих по всему спектру (цианины, кумарины, родамины и др.).

Прямой метод – одноэтапный: на фиксированный мазок клеток, содержащих АГ, наносят диагностическую сыворотку с антителами, мечеными флюорохромом (ФИТЦ или другим), инкубируют, отмывают, и учитывают свечение в люминесцентном микроскопе (рис. 9.4). При положительном результате наблюдают яркие светящиеся клетки.

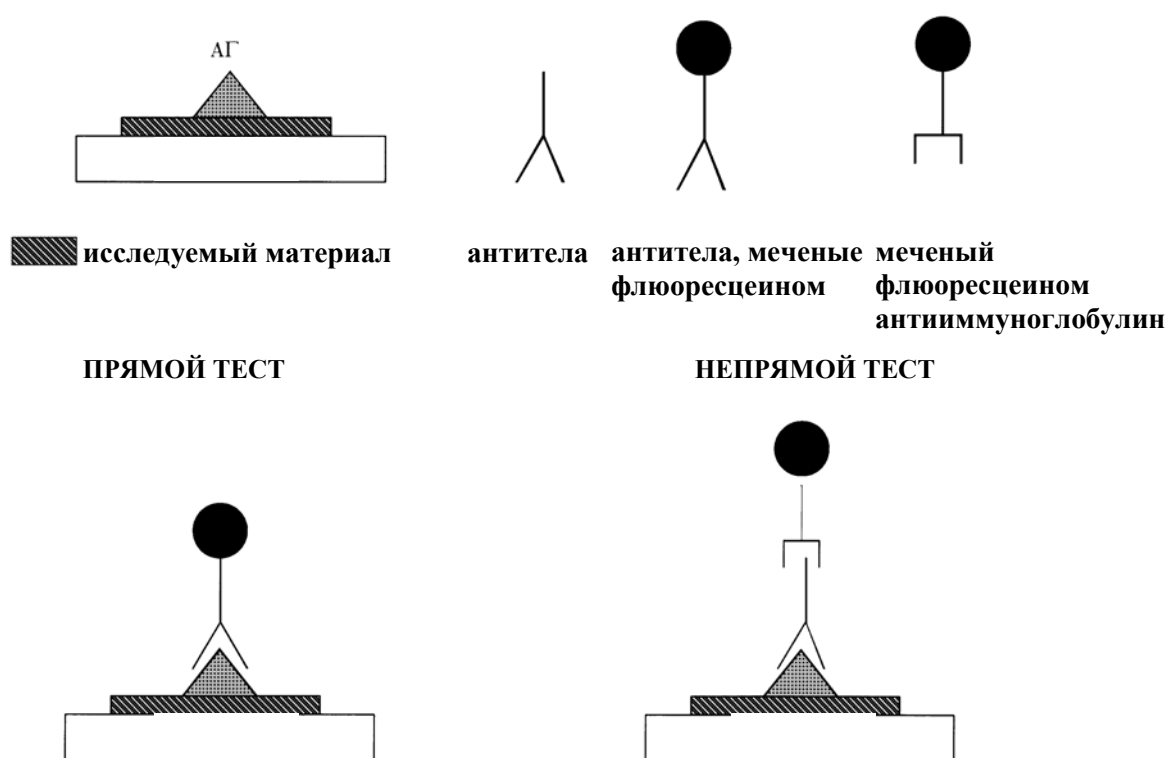


Рис. 9.4. Метод иммунной флюоресценции

Непрямой метод иммунофлюоресценции заключается в том, что первоначально антиген обрабатывают обычной диагностической сывороткой, которую получают путем иммунизации кроликов соответствующим антигеном (рис. 9.4.).

Для обнаружения образовавшегося комплекса антиген-антитело используют меченую флюорохромом **антисыворотку против иммуноглобулинов** кролика. Такую сыворотку получают путем иммунизации животных другого вида (например, барана) иммуноглобулинами кролика. Непрямой метод дает возможность обнаруживать различные комплексы «антиген-антитело» с помощью одной меченой антиглобулиновой сыворотки. Его чувствительность выше, чем у прямого метода. С помощью непрямого метода можно выявлять не только антигены, но и антитела.

Метод иммунной флюоресценции используют повсеместно для **идентификации бактерий, вирусов** (клеток, зараженных вирусами), а также для определения любых антигенов клеток человека и животных (мембранных рецепторов, клеточных антигенов и т.д.).

Иммуноферментный анализ

В методах иммуноферментного анализа (ИФА) используют иммунореагенты, меченные ферментами (рис. 9.5). Наиболее широко применяется твердофазный ИФА. В качестве твердой фазы чаще всего используют полистироловые или поливиниловые планшеты, на которых адсорбированы антигены или антитела.

Для выявления антител в сыворотке больного методом ИФА известный антиген адсорбируют на дне лунок полистиролового планшета. Затем вносят исследуемую сыворотку, в которой могут быть антитела к данному антигену. После инкубации лунки промывают для удаления несвязавшихся белков и вносят в них **конъюгат** – антииммуноглобулиновые антитела, меченные ферментом (обычно пероксидазой хрена). Их получают путем иммунизации животных иммуноглобулинами человека с последующим химическим связыванием с молекулами фермента.

После инкубации и отмывания в лунки добавляют специфичный для пероксидазы субстрат (пероксид водорода) и хромоген (например, орто-фенилендиамин) для регистрации конечных продуктов

превращения субстрата. Реакцию останавливают добавлением серной кислоты с появлением коричневого окрашивания.

О наличии и количестве антител судят по изменению цвета и интенсивности окраски раствора. Для регистрации оптической плотности раствора используют многоканальные фотометры с вертикальным ходом луча (планшетные ридеры или мультисканы).

Оптическая плотность пробы пропорциональна концентрации специфических АТ в сыворотке крови.

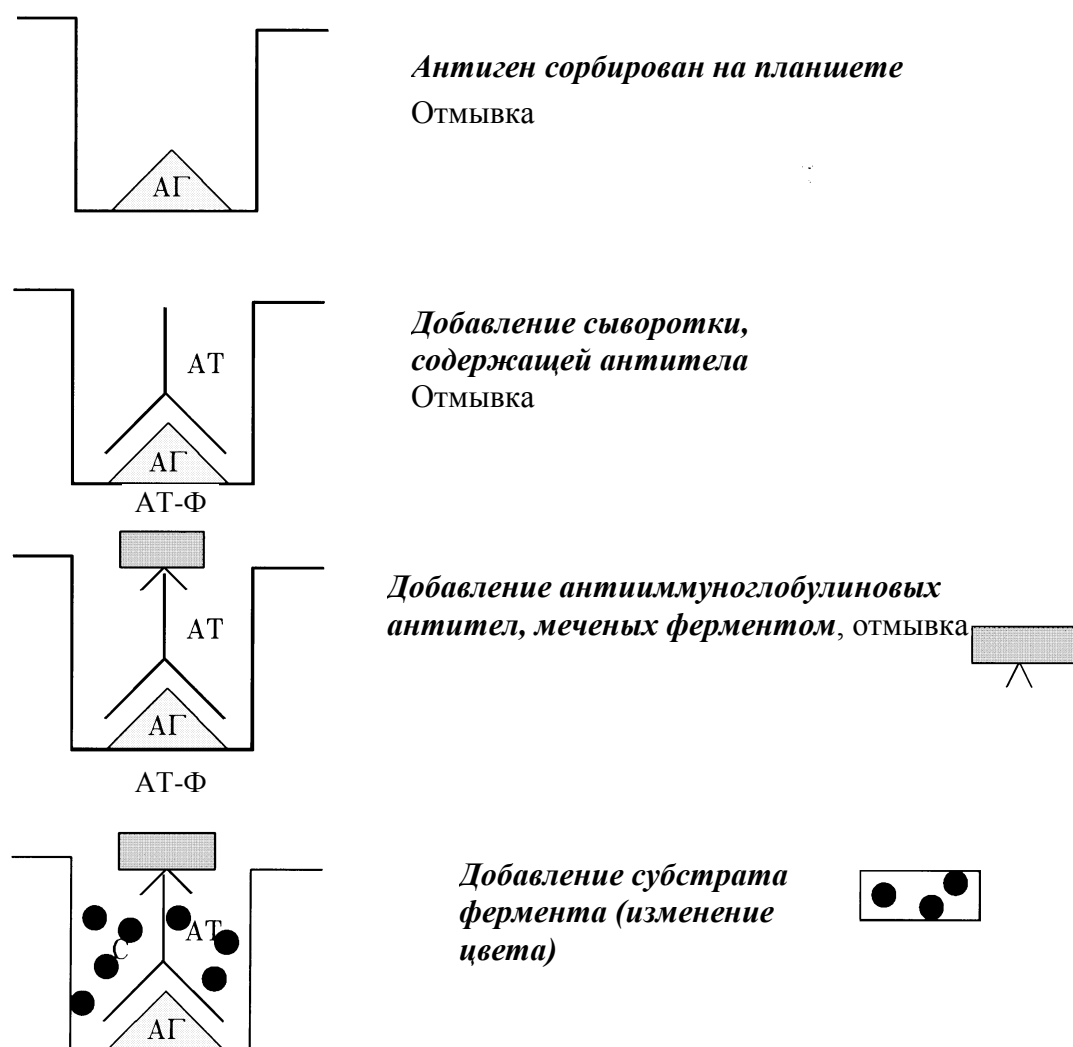


Рис. 9.5. Принцип выявления антител в твердофазном ИФА

Для выявления АГ в биологических жидкостях пациентов используют сэндвич-вариант ИФА.

Исходно в этом варианте метода на дно лунок полистиролового планшета адсорбируют известные антигенспецифические антитела, полученные иммунизацией животных. Затем добавляют биологический образец (клинический материал) и инкубируют с антителами. Если в образце присутствует антиген, то он связывается со специфическими антителами и образуется иммунный комплекс. После тщательной промывки связавшийся АГ обрабатывают новым слоем специфических антител, как правило, другого видового происхождения («сэндвич»-версия ИФА). Планшет отмывают. Остальные этапы анализа (добавление видоспецифического антиглобулинового конъюгата и применение других реагентов) совпадают с обычным методом ИФА.

Вариантом ИФА для непосредственного *выявления антигенов в тканях* являются отдельные *методы иммуногистохимии*. Они применяются для обнаружения опухолевых клеток, бактерий и вирусов *в образцах тканей (биоптатах)*. Разработаны прямые и непрямые варианты методик, в качестве фермента для конъюгата чаще используется пероксидаза, в качестве нерастворимого хромогена – диаминобензидин. Оценка реакции производится методом микроскопии с выявлением клеток, окрашенных иммунопероксидазной реакцией.

В настоящее время *ИФА* является *самым распространенным* и *универсальным* из всех серологических методов. ИФА весьма чувствителен (как и радиоиммуноанализ – РИА), однако в отличие от РИА не требует специального дорогостоящего оборудования или особых мер техники безопасности для персонала. Различные варианты ИФА адаптированы для автоматизированного выполнения и регистрации результатов анализа. С их помощью можно проводить массовый *скрининг* больших групп населения на маркеры инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний.

Иммуноблотинг (вестерн-блотинг)

Часто бывает, что АГ представляет собой сложную смесь разнородных молекул. К такому комплексному АГ обычно вырабатывается набор различных АТ. Для одновременного обнаружения различных фракций АГ либо АТ в исследуемом материале применяют метод *вестерн-блотинга*. В частности, он

используется как референс-метод при **диагностике ВИЧ-инфекции для обнаружения АГ к различным вирусным АГ**.

Для этого известный набор вирусных белковых АГ подвергают электрофорезу в полиакриламидном геле. АГ мигрируют в геле в зависимости от их молекулярной массы и заряда. После окончания электрофореза на пластину с гелем помещают лист нитроцеллюлозной мембраны (НЦМ) и проводят повторный электрофорез в поперечном направлении. АГ выходят из геля и прикрепляются к листу нитроцеллюлозной мембраны.

Далее лист НЦМ с отпечатками АГ (англ. *blot* – отпечаток) обрабатывают сывороткой больного, содержащей антитела. Если АГ присутствуют в сыворотке, то они связываются с НЦМ по месту локализации различных фракций АГ.

Далее метод не отличается от гетерогенного (*твердофазного*) иммуноферментного анализа: НЦМ промывают для удаления несвязавшихся белков и вносят в них антииммуноглобулиновые антитела, меченные ферментом (пероксидазой). После инкубации и отмывания НЦМ помещают в раствор субстрата (перекись водорода) и хромогена (диаминобензидин и др.) О количестве фракций антител к различным АГ судят по появлению нескольких окрашенных пятен на НЦМ.

Радиоиммунологический анализ

Принцип **радиоиммунологического анализа (РИА)** основан на выявлении комплекса АГ-АТ, в котором один из иммунореагентов помечен радиоактивным изотопом. Обычно используют изотопы йода (^{125}I или ^{131}I). Учет реакции проводят по убыванию или по возрастанию радиоактивности (в зависимости от методики РИА) с помощью специальных счетчиков β -излучения. Метод высокочувствителен и специфичен, но повсеместно вытесняется иммуноферментным анализом, учитывая небезопасность работы с радиоактивными изотопами и необходимость в сложном регистрирующем оборудовании.

Однако там, где в качестве АГ выступает низкомолекулярный гаптен (например, лекарственные препараты, стероидные и пептидные гормоны и др.) РИА используется весьма широко. Существуют его гетерогенные варианты, аналогичные ИФА, а также конкурентные варианты.

В случае конкурентного анализа на твердую фазу (полистироловые шарики, лунки полимерных планшетов и др.) сорбируют известные АТ в комплексе с радиоактивно меченым АГ в известной концентрации (например, гормоном). К этому комплексу добавляют исследуемый материал, содержащий неизвестную концентрацию изучаемого гормона. Он вытесняет из комплекса меченый АГ-гормон пропорционально своей концентрации (см. рис. 9.6).

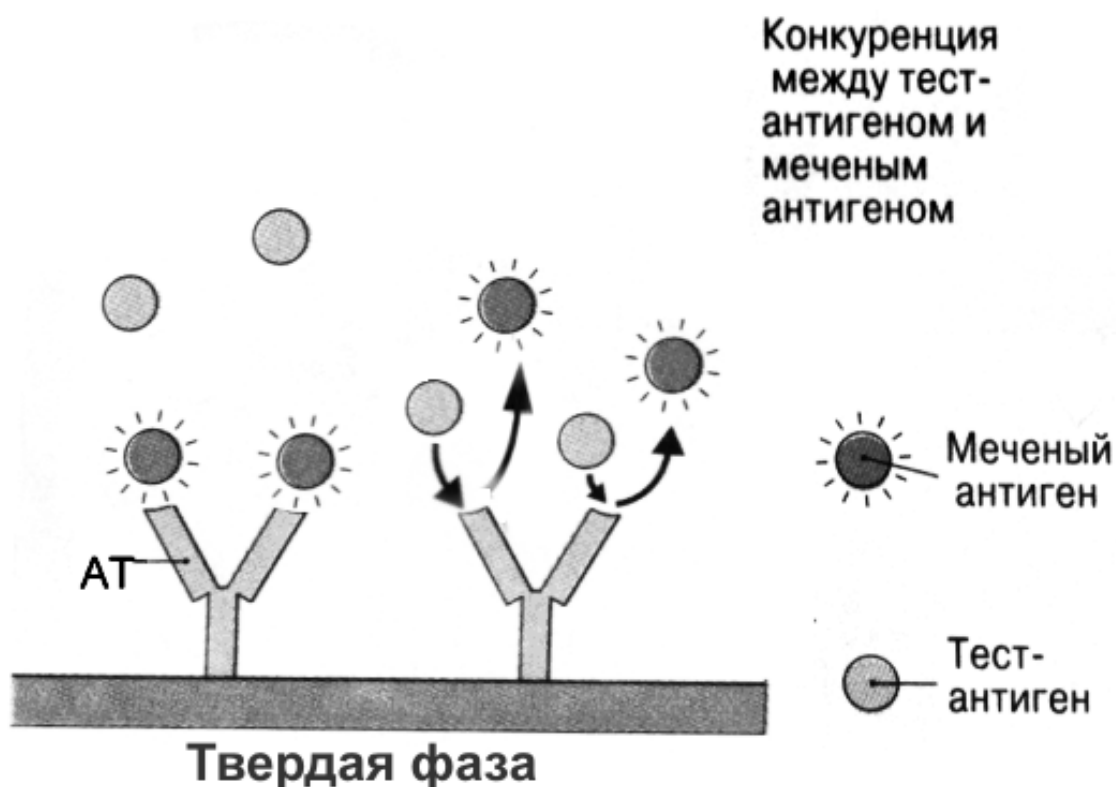


Рис. 9.6. Определение антигенов в конкурентном РИА

Радиоактивность вытесненного АГ измеряют с помощью счетчика и определяют концентрацию неизвестного АГ.

Специализированный твердофазный вариант РИА, *радиоаллергосорбентный тест* (или **РАСТ**), используется для определения **концентрации аллерген-специфических IgE-антител** в сыворотках крови обследуемых с аллергией

Иммунохроматографические методы – латеральный проточный иммуноанализ (ЛПИА)

При решении многих практических задач важнейшим требованием к современным методам иммуноанализа, наряду с высокой специфичностью и чувствительностью, становится время получения конечного результата. В клинических условиях все большее значение приобретают лабораторные *«тесты у постели больного»* (англ. *bedside testing* или *point-of-care testing*). Кроме того, такие методы особенно необходимы в полевых условиях – при проведении судебно-медицинской и криминалистической экспертиз, при оценке состояния окружающей среды и т.д. Их относят к **экспресс-тестам**. При этом данные методы не должны использовать сложное регистрирующее оборудование и предъявлять повышенные требования к квалификации персонала.

Для этих условий разработаны различные варианты ИФА, иммунной флюоресценции, а также **иммунохроматографические методы**.

Одним их широко используемых иммунохроматографических методов является **латеральный проточный иммуноанализ (ЛПИА)**. Он сочетает преимущества тонкослойной хроматографии и иммунологического анализа и предназначен для **обнаружения антигенов** в сложных многокомпонентных смесях.

Если АГ обладает достаточной молекулярной массой, то применяется «сэндвич»-вариант иммуноанализа.

В ЛПИА используется полоска из полимера (основа), на которую последовательно нанесены тонкослойные капиллярные мембраны, содержащие все необходимые реагенты. Мембраны позволяют реагентам диффундировать с током жидкости вдоль полоски. Диффузия обусловлена капиллярным эффектом.

В начале полоски располагается мембрана для внесения образца. За ней следует мембрана, содержащая *конъюгат* – антитела к изучаемому АГ, меченые чувствительной меткой (см. рис. 9.7, А). Наиболее часто применяются моноклональные АТ (мАТ). В качестве метки обычно используют наночастицы коллоидного золота, либо флюоресцентный краситель или фермент.

Внесение образца производится помещением начальной зоны полоски в исследуемую жидкость (сыворотка, моча, слюна, фильтраты с вирусными частицами, смывы с поверхностей и т.д.).

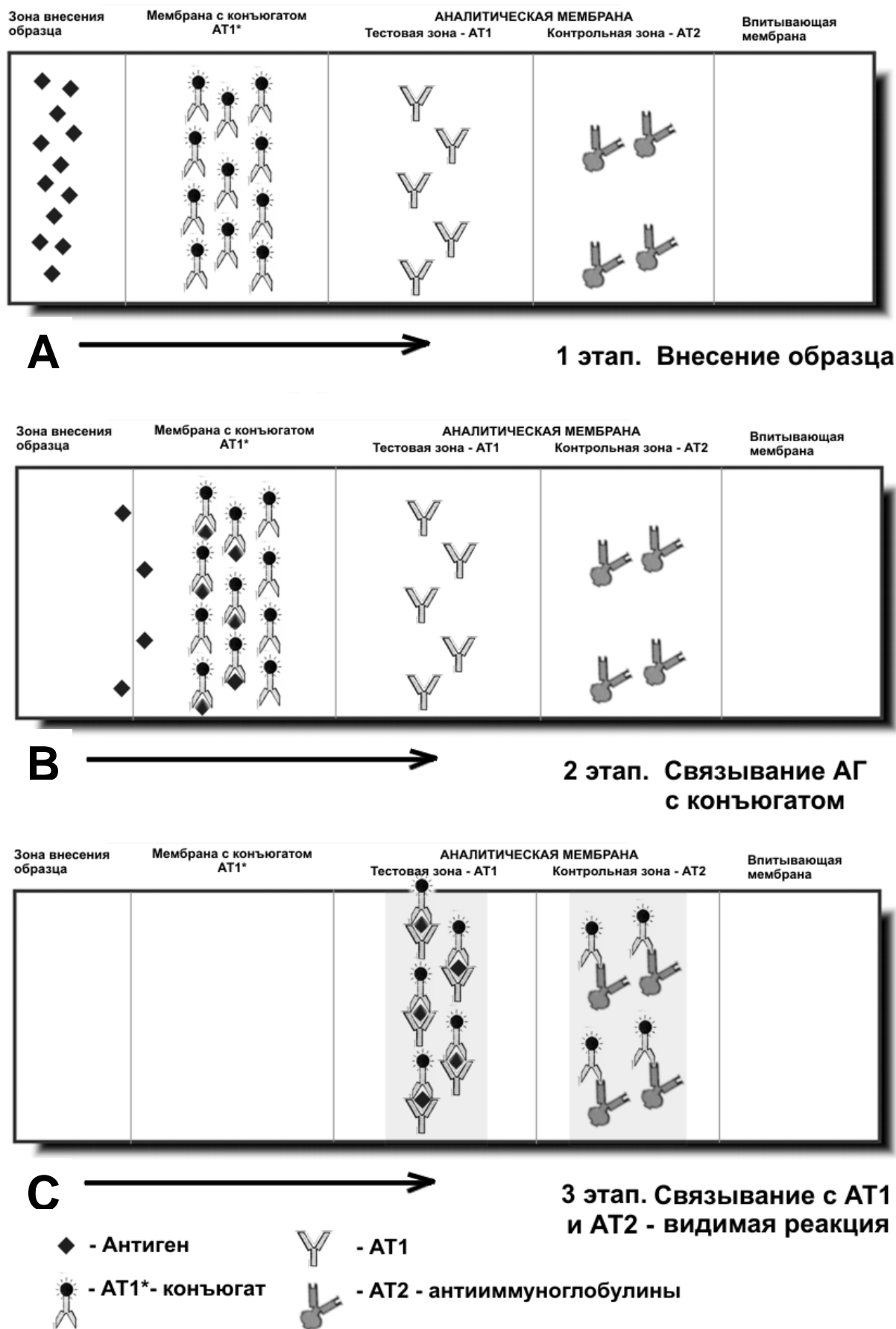


Рис. 9.7. Принцип определения антигенов в ЛПИА

Антиген начинает диффундировать вдоль полоски. Он взаимодействует с конъюгатом в мембране. Образуется *иммунный комплекс* «АГ–меченые МАТ» (см. рис. 9.7, В).

Иммунный комплекс сохраняет растворимость. Он продолжает диффузию вдоль полоски и достигает *аналитической мембраны*. На ней сформировано 2 зоны – тестовая зона и контрольная зона.

В тестовой зоне на мембране адсорбированы немеченые АТ к антигену. При встрече с комплексом «АГ–меченые МАТ» они захватывают его и связываются с доступными эпитопами АГ, образуя сэндвич (рис. 9.7, С).

По мере поступления новых молекул в тестовую зону размер общего комплекса (сэндвича), содержащего метку, растет. В итоге он концентрируется в видимую полосу (при использовании наночастиц золота – красного цвета).

Избыток молекул конъюгата (первичные меченые АТ) продолжает диффундировать по полоске и переходит в контрольную зону. В ней адсорбированы противовидовые АТ, реагирующие с первичными мечеными АТ. В этой зоне образуется вторая окрашенная полоса. Она является контрольной, ее наличие подтверждает работоспособность системы (рис. 9.7, С).

Избыток всех реагентов окончательно абсорбируется в конце полоски на последней впитывающей мембране.

Весь ход реакции занимает 3-5 минут, максимально – 10-15 минут. Наличие двух полос подтверждает присутствие АГ в материале, одна полоса соответствует отрицательному результату.

Так как толщина окрашенных полос пропорциональна концентрации АГ, их сканирование при помощи портативных сканеров и последующий компьютерный анализ позволяют оценить концентрацию АГ в образце.

В настоящее время область применения иммунохроматографии постоянно расширяется. Латеральный проточный иммуноанализ активно используется для *экспресс-обнаружения АГ* при инфекционной патологии, в частности, при вирусных инфекциях (геморрагические лихорадки, грипп, корь и мн.др.).

Среди остальных медицинских приложений на основе ЛПИА широкое распространение получил тест на беременность, где в моче обследуемых определяется гормон хорионический гонадотропин.

ГЛАВА 10. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ

Иммунопрофилактика и иммунотерапия – определения и основные виды

Иммунопрофилактика (ИП) – это использование иммунобиологических препаратов или химических средств, влияющих на систему иммунитета, для **предупреждения** развития заболеваний.

Важнейшее место в системе иммунопрофилактики занимает **иммунопрофилактика инфекционных заболеваний**.

Она включает комплекс мероприятий, направленных на **предотвращение, ограничение распространения или ликвидацию** вирусных, бактериальных или других инфекций посредством **вакцинации**.

Иммунотерапия (ИТ) – это **лечение** инфекционных, онкологических и аутоиммунных заболеваний при помощи иммунобиологических препаратов или химических средств, влияющих на состояние системы иммунитета.

По **характеру действия** на систему иммунитета различают **стимулирующую** и **подавляющую** ИП и ИТ.

Стимулирующая – используется для активации реакций иммунитета в организме для предупреждения инфекционных заболеваний и при иммунодефицитах.

Примерами стимулирующей иммунопрофилактики является вакцинация, стимулирующей иммунотерапии – назначение колониестимулирующих факторов для стимуляции лейкопоза при химиотерапии онкологических заболеваний.

Подавляющая – применяется для угнетения иммунных реакций при аллергии и аутоиммунных заболеваниях, подавления роста опухоли при онкопатологии.

Примеры – аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ) для подавления IgE-зависимых немедленных реакций при аллергии; назначение глюкокортикоидов и цитостатиков при аутоиммунных болезнях; применение таргетной терапии моноклональными антителами для лечения раковых опухолей.

Специфическая – используются препараты антигенов (вакцины, анатоксины) или антител, специфичных по отношению к возбудителю или его антигенам, а также к опухолевым клеткам.

Неспецифическая – включает воздействие на систему иммунитета иммунобиологических препаратов (цитокинов, компонентов микробных клеток и др.), химических соединений и физических факторов, неспецифичных по отношению к возникшему патологическому процессу.

По **механизму действия** различают **активную** ИП и ИТ, когда система иммунитета сама, т.е. активно, отвечает на введенный препарат (обычно на антигены, вакцины) и **пассивную** ИП и ИТ, когда в организм вводят готовые цитокины или антитела в виде сывороток, иммуноглобулинов, моноклональных АТ. Введение аллогенных клеток (лимфоцитов и др.) обычно применяют редко из-за несовместимости по HLA-антигенам.

По **времени проведения** при контакте с инфекционным агентом или источником инфекции выделяют **предэкспозиционную** ИП и ИТ, которую выполняют еще **до контакта** с возбудителем, и **постэкспозиционную** – **после** состоявшегося контакта.

Экстренная постэкспозиционная ИП и ИТ проводится как можно раньше после контакта – до 24-48 часов, оптимально – сразу после обращения за медпомощью.

Все средства иммунотерапии и иммунопрофилактики являются **иммуномодуляторами** – они изменяют и модифицируют иммунный ответ, стимулируют его, либо подавляют.

Вакцины и специфическая иммунопрофилактика

Создание вакцин и **вакцинопрофилактика** являются наиболее выдающимся достижением медицинской науки, в результате которого частота многих жизнеугрожающих инфекций снизилась на порядок и в ряде стран уменьшилась до единичных случаев (полиомиелит, желтая лихорадка, корь, краснуха, бешенство, дифтерия, столбняк, корь, вирусный гепатит В и целый ряд других инфекций). Посредством вакцинации была полностью ликвидирована натуральная оспа.

Доказано, что по соотношению «**стоимость-эффективность**» вакцинация **превосходит** любое известное медицинское вмешательство. По имеющимся оценкам, вакцинация, ежегодно

проводимая в мире, предотвращает свыше 6 млн инфекционных заболеваний со смертельным исходом.

Основные **преимущества вакцинации**:

1) **эрадикация** (глобальная ликвидация) или **элиминация** (региональная ликвидация) возбудителей ряда инфекционных заболеваний (примеры – оспа, полиомиелит);

2) снижение инфекционной заболеваемости и смертности (особенно в раннем детском возрасте и среди пожилых лиц); уменьшение тяжести течения инфекционных болезней, предупреждение развития осложнений;

3) формирование популяционного иммунитета (в том числе – снижение заболеваемости среди невакцинированных лиц);

4) профилактика онкопатологии, ассоциированной с инфекцией (гепатоцеллюлярной карциномы при вирусном гепатите В, рака шейки матки при инфекции вирусом папилломы человека высокоонкогенного риска);

5) снижение индивидуальной и общественной уязвимости к актам биотерроризма;

6) как итог – увеличение ожидаемой продолжительности жизни в человеческой популяции;

7) положительные социально-экономические эффекты (прямые – снижение затрат на здравоохранение; непрямые – стимуляция экономического роста вследствие улучшения общественного здоровья).

Вакцины (от лат. *vassa* – корова) были названы в соответствии с первыми противооспенными субстанциями, полученными из вируса коровьей оспы английским врачом Э. Дженнером в конце XVIII века, которые он использовал для иммунопрофилактики натуральной оспы.

Вакцины – это **антигенные** иммунопрепараты, включающие **аттенуированных** (лишенных вирулентности) возбудителей заболеваний или их протективные антигены, предназначенные для создания **искусственного активного иммунитета** с целью **специфической профилактики** инфекционных заболеваний.

Искусственный **активный** специфический иммунитет, создаваемый вакцинами, стимулирует как гуморальные (**продукцию антител**), так и клеточные иммунные реакции.

По своему **происхождению** и **способу получения** вакцины классифицируются следующим образом:

1) вакцины из живых микроорганизмов (**живые вакцины**), содержащие *ослабленные* (аттенуированные) *микроорганизмы*, лишенные вирулентности;

2) вакцины из инаktivированных микробных культур (**инаktivированные** или «убитые» вакцины);

3) вакцины, полученные путем химической обработки микробных агентов (**химические вакцины**);

вариантом инаktivированных/химических вакцин являются **противовирусные «сплит»-вакцины** (от англ. *split* – расщепление, дробление), где липидная оболочка вируса удалена при помощи детергента; это улучшает доступность наружных белковых АГ вируса для клеток системы иммунитета;

4) **анатоксины** (токсоиды) – иммунопрепараты, полученные из бактериальных **экзотоксинов**, лишенные их ядовитых свойств, но сохранившие антигенные свойства; получают анатоксины путем обработки экзотоксинов формальдегидом;

5) **субъединичные** вакцины, представляющие собой различные комбинации очищенных наиболее иммуногенных вирусных белков или других АГ;

6) **генно-инженерные рекомбинантные вакцины** и **ДНК-вакцины**, полученные методами генной инженерии.

Живые вакцины содержат ослабленных возбудителей инфекционных заболеваний – со сниженной вирулентностью или полностью лишенных вирулентности.

Разработано большое количество живых вакцин для профилактики тяжелых вирусных и бактериальных инфекций. Среди них – вакцины против натуральной оспы, туберкулеза, сибирской язвы, туляремии, желтой лихорадки, полиомиелита, кори, эпидемического паротита, краснухи и мн.др.

Основное преимущество живых вакцин – способность создавать полноценный активный иммунитет, сходный с естественным пост-инфекционным иммунитетом. Тем не менее, существует минимальная вероятность индукции патологического процесса или каких-либо осложнений после иммунизации живой вакциной, особенно у пациентов с иммунодефицитом (например, живая полиомиелитная вакцина в редчайших случаях может провоцировать вакцино-ассоциированный полиомиелит, поэтому сейчас не применяется в Республике Беларусь).

Для иммунизации живыми вакцинами используют специально модифицированные авирулентные микробные штаммы. Уменьшение микробной вирулентности может происходить под воздействием различных физических, химических или биологических факторов (помещение культуры на голодные питательные среды, воздействие антисептиков, пассажи через лабораторных животных, генно-инженерные манипуляции и т.д.).

Широкое распространение получила живая аттенуированная вакцина **БЦЖ** для специфической профилактики туберкулеза. В 1908 г. исследователи А. Кальметт и К. Герен из Института Пастера в Лилле (Франция) избрали для получения вакцины вирулентную *Mycobacterium bovis* и приступили к культивированию данного штамма в среде с желчью. После 13 лет непрерывных пересевов в желчной среде (239 пассажей) возбудитель значительно ослабил свою вирулентность. Первое клиническое применение противотуберкулезной вакцины БЦЖ (или *bacille Calmette-Guerin*) состоялось в 1921 г.

Вакцина БЦЖ до настоящего времени остается единственной эффективной вакциной для иммунизации человека против туберкулеза.

Инактивированные вакцины создаются на основе утративших жизнеспособность штаммов микроорганизмов, убитых нагреванием или обработанных различными химическими веществами (этанолом, формальдегидом и др.). Эта группа препаратов включает инактивированную вакцину против полиомиелита (широко применяется в настоящее время), вакцины против брюшного тифа, холеры, коклюша и ряд других. Обычно такие вакцины создают менее напряженный иммунитет. Постепенно они вытесняются другими, более современными вакцинами.

Особую группу инактивированных вирусных вакцин включают так называемые «**расщепленные**» или «**сплит**»-вакцины. Они включают в себя вирусные частицы (вирионы), предварительно обработанные детергентами. Детергенты удаляют липидную оболочку из сложных вирусов, делая доступными для клеток системы иммунитета белковые АГ вируса. Например, показана высокая эффективность противогриппозных сплит-вакцин, которые содержат вирусные оболочки-капсиды с иммуногенными внешними белками – гемагглютинином и нейраминидазой.

Химические вакцины представляют собой комплексы АГ, выделенные химическими и физико-химическими способами из

исходных микробных клеток. Примером таких вакцин является менингококковая полисахаридная химическая вакцина.

Анатоксины (также известные как токсиды) получают из экзотоксинов бактерий путем обработкой их формальдегидом при температуре 38-40°C в течение нескольких дней или недель.

Обычно очищенные анатоксины далее сочетают со вспомогательными веществами, например адъювантом – гидроксидом алюминия. Гидроксид алюминия создает депо антигена в месте введения и усиливает иммунный ответ.

Анатоксины индуцируют выработку специфических антител, создавая приобретенный антитоксический иммунитет.

Так, например, дифтерийный и столбнячный анатоксины являются весьма эффективными препаратами для иммунопрофилактики соответствующих тяжелых инфекций.

Эти анатоксины входят в состав поливалентной **АКДС-вакцины** (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина; компоненты вакцины адсорбированы на гидроксиде алюминия).

Массовая регулярная иммунизация против столбняка и дифтерии перевела данные инфекции в разряд **вакциноуправляемых**; случаи данных заболеваний во многих странах стали единичными.

Субъединичные вакцины относятся к поколению современных высокоэффективных вакцин. Обычно это поливакцины, состоящие из множества антигенных фракций.

Дизайн субъединичных вакцин включает в себя ряд общих этапов. Первоначально определяют протективные АГ возбудителя и их эпитопы. После культивирования наиболее иммуногенные фракции выделяют и комбинируют друг с другом в различных сочетаниях. Наконец, их связывают со стимулятором иммунного ответа – адъювантом.

В целом субъединичные вакцины менее реактогенны и способны создавать высоконапряженный иммунитет.

Представителем этой группы вакцин является противогриппозная вакцина *гриппол*. Она содержит варианты специфических поверхностных антигенов вируса гриппа (гемагглютинина и нейраминидазы) в сочетании с иммуностимулятором полиоксидонием с адъювантной активностью.

Генно-инженерные (рекомбинантные) вакцины – это еще одно поколение современных высокоэффективных вакцин. Основу их составляют рекомбинантные белки.

После идентификации наиболее иммуногенного белка возбудителя, кодирующую его ДНК вводят с помощью вектора в культуру клеток-продуцентов (бактерий, дрожжей, других эукариотических клеток), где антиген экспрессируется в больших количествах.

Векторами служат плазмиды, бактериофаги, другие вирусы (например, аденоассоциированный вирус). Разработано большое количество комбинированных векторов.

К настоящему времени есть только несколько клинических примеров широкого использования рекомбинантных вакцин. Максимальную эффективность продемонстрировала рекомбинантная ***Hbs-вакцина*** против гепатита В, остановившая глобальное распространение данного заболевания.

Также разработана экспериментальная генно-инженерная вакцина против бешенства.

Потенциально наиболее перспективными являются ***ДНК-вакцины***. Это новые вакцины, созданные на основе рекомбинантных технологий. Они включают специфические последовательности ДНК, кодирующие наиболее иммуногенные эпитопы инфекционного агента. ДНК-фрагмент, кодирующий антиген, вводится в систему доставки ДНК в клетки человека (например, вирус или авирулентную бактерию, способную длительно размножаться внутриклеточно в организме). После успешного внедрения экзогенной ДНК клетки макроорганизма сами начинают вырабатывать протективные антигены в количествах, достаточных для полноценного иммунитета.

На практике оптимальным является использование *поливалентных вакцин (поливакцин)*, содержащих комбинацию антигенов нескольких возбудителей и адъювант. Такие вакцины не менее эффективны, и при этом значительно упрощают схему иммунопрофилактики, сокращая число инъекций.

Пути введения вакцин: *накожно* (против оспы и туляремии), *внутрикожно* (БЦЖ), *перорально* (полиомиелитная живая вакцина), *интраназально* (живая противогриппозная), *внутримышечно* (вакцина против гепатита В, АКДС).

Вакцины, особенно живые, для сохранения свойств требуют особых условий хранения и транспортировки (постоянное пребывание на холоду – ***«холодовая цепь»***).

Существуют нормативные документы (***календари прививок***) о сроках и кратности введения для каждой вакцины, правилах применения и противопоказаниях. Согласно календарю прививок,

многие вакцины через определенные промежутки времени вводят повторно – делают **ревакцинацию**. Последующие введения усиливают иммунный ответ, титр антител увеличивается.

Согласно текущей редакции Национального календаря профилактических прививок (2018 г.), независимо от эпидемиологической ситуации в Республике Беларусь проводится **плановая вакцинация** против следующих заболеваний: вирусного гепатита В, туберкулеза, дифтерии, столбняка, коклюша, гемофильной инфекции, полиомиелита, кори, паротита и краснухи, гриппа. Детям до 5 лет с тяжёлыми соматическими заболеваниями, иммунодефицитами и инфекциями вводится пневмококковая вакцина.

По *эпидемическим показаниям* (контактным лицам; работникам отдельных профессий, при посещении стран, эндемичных по ряду инфекций, при работе в эпидемических очагах, а также в случаях, если заражение приводит к осложненному течению заболевания или летальному исходу) выполняют прививки против бешенства, ветряной оспы, вирусного гепатита А и В, желтой лихорадки, бруцеллеза, туляремии, лептоспироза, сибирской язвы, чумы и некоторых других инфекций.

Пока не входят в календарь прививок, но зарегистрированы и разрешены к применению в Республике Беларусь вакцины против ротавирусной инфекции, вакцина против вирусов папилломы человека.

Плановая иммунизация населения Республики Беларусь является приоритетным направлением в общественном здравоохранении.

Как результат многолетней плановой вакцинации, в Республике Беларусь ликвидирован полиомиелит. В настоящее время отсутствуют или регистрируются лишь единичные, обычно завозные, случаи эпидемического паротита; кори (для сравнения, в допрививочный период выявлялось 70 тыс. случаев болезни ежегодно), краснухи (еще в 1997 г. отмечалось свыше 40 тыс. случаев), в 10 раз снизилась заболеваемость вирусным гепатитом В.

Расширились показания для вакцинации лиц с вторичным иммунодефицитом (в том числе пациентов, находящихся на химиотерапии онкологических заболеваний). Вследствие возобновления пероральной вакцинации диких животных против бешенства сократилась циркуляция этого вируса в животной популяции, снижая вероятность заражения людей.

Об эффективности прививочных мер свидетельствует также улучшение ситуации с заболеванием ветряной оспой. Массовая

вакцинация контактных лиц приводит к резкому снижению заболеваемости (в частности, по г. Минску из 3300 контактных детей, привитых в течение двух дней после контакта, заболело только 20 человек).

С учетом выдающихся возможностей вакцинопрофилактики в борьбе с инфекционными заболеваниями Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила 2011-2020 гг. десятилетием вакцин. В мае 2012 года Всемирная ассамблея здравоохранения одобрила *Глобальный план действий в отношении вакцин*. Целью плана стало «...предотвращение к 2020 году миллионов случаев смерти благодаря обеспечению более справедливого доступа к существующим вакцинам для населения всех стран и сообществ».

Задачами плана являются:

- достижение целевых показателей по охвату вакцинацией;
- наращивание темпов борьбы с болезнями, предотвратимыми с помощью вакцин, включая глобальную эрадикацию полиомиелита;
- внедрение новых и улучшенных вакцин; внедрение разработок для получения вакцин и технологий следующего поколения.

С решением этих задач будет связан дальнейший прогресс современной вакцинопрофилактики.

Пока еще не разработаны вакцины к таким тяжелым заболеваниям, как ВИЧ-инфекция, гепатит С, вирусные геморрагические лихорадки, включая лихорадку Эбола. С одной стороны, это обусловлено непрерывной изменчивостью самих вирусов, с другой – высокими затратами на разработку вакцин и проведение клинических испытаний.

Сфера применения современных вакцин постоянно расширяется. Иногда их применяют с целью *иммунотерапии* при хронических затяжных инфекциях для стимуляции иммунитета (убитые стафилококковая, гонококковая, бруцелллезная вакцины).

Одним из наиболее перспективных направлений является разработка *противоопухолевых вакцин*. В частности, уже более 40 лет достаточно успешно применяется внутрипузырная (местная) БЦЖ-терапия как иммуностимулятор при раке мочевого пузыря.

Вакцины новых поколений создают дополнительные возможности в борьбе с онкопатологией. Например, вакцины на основе *дендритных клеток, несущих иммунизирующий опухолевый антиген*, являются мощными стимуляторами иммунитета. Культуру ДК выделяют из крови пациента и различными способами превращают их в клетки, представляющие опухолевые АГ

цитотоксическим Т-лимфоцитам. Не менее перспективным является направление, основанное на секвенировании генома опухоли отдельного пациента (*персонализированная вакцина*). Здесь происходит установление последовательностей ДНК, кодирующих индивидуальные опухолевые АГ пациента, и создание на их основе рекомбинантных противоопухолевых пептидных вакцин, включающих необходимый набор таких антигенов.

Иммунотерапия, серотерапия. Иммунные антисыворотки, иммуноглобулины и моноклональные антитела

Иммунотерапия как метод лечения, непосредственно влияющий на состояние системы иммунитета, уже длительное время активно используется в клинической практике.

Для проведения иммунотерапии применяют *биологические иммунопрепараты* и *иммунотропные химиотерапевтические средства* (продукты химического синтеза).

Они могут как усиливать иммунные реакции (*стимулирующая иммунотерапия*), так и угнетать их (*подавляющая* или *иммуносупрессивная* терапия).

Большинство из иммунотропных препаратов обладают лишь ограниченной специфичностью в отношении различных компонентов системы иммунитета (*неспецифическая иммунотерапия*).

При *специфической иммунотерапии*, направленной против конкретного антигена или возбудителя, используют препараты *на основе антител* или реже – иммунных клеток. Лечение данными средствами – это специфическая *пассивная иммунотерапия*, которая представляет собой вариант *заместительной* иммунотерапии.

Для *стимуляции* системы иммунитета разработано большое количество иммунотерапевтических средств.

Среди них высокую эффективность показали продукты *рекомбинантных цитокинов* (IL-1 β или *беталейкин*, ИЛ-2 или *ронколейкин*, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор или *филграстим*, рекомбинантные альфа- и бета-интерфероны, отдельные хемокины и ряд других биопрепаратов). Все они используются для активации системы иммунитета у пациентов с иммунодефицитами, особенно на фоне проведения цитостатической терапии.

Перечень иммуностимулирующих средств химического происхождения, известных как *иммуномодуляторы*, весьма обширен

и включает десятки соединений различной природы. Среди них заметное место занимают препараты группы *индукторов интерферона* (кагоцел, амиксин, циклоферон, полудан и мн. др.). Однако до сих пор их клиническая эффективность не получила подтверждения в многоцентровых исследованиях, организованных по принципам доказательной медицины.

Определенной иммуностимулирующей активностью обладают препараты бактериального происхождения (например, *ликопид*), а также синтетические полиэлектролиты (*полиоксидоний*).

Левамизол (декарис) – противогельминтный препарат, способный активировать Т-лимфоциты. Иммуностимулятор *имиквимод* связывается с клетками врожденного иммунитета через образ-распознающие рецепторы TLR-7 и TLR-8. Это приводит к усилению продукции цитокинов – α -интерферона, ФНО, ИЛ-6, которые обладают противовирусной активностью.

С другой стороны, *подавляющая иммунотерапия* предполагает лечение, которое ингибирует иммунные реакции.

С этой целью используются различные лекарственные средства, большинство из них – *химиопрепараты*. Например, многочисленные группы *цитостатиков* применяются для химиотерапии рака (метотрексат, цисплатин, фторурацил, винкристин, доксорубицин и мн. другие); *циклоспорин*, *такролимус* и *рапамицин* ингибируют Т-клетки, тем самым предотвращая отторжение аллотрансплантата и прогрессирование аутоиммунных заболеваний; глюкокортикоиды и терапевтические гуманизированные моноклональные антитела используют во всех этих клинических ситуациях.

Пассивная иммунотерапия означает лечение или профилактику заболеваний путем введения иммунобиопрепаратов, *полученных из внешних источников*. Она восполняет факторы иммунной защиты, которые отсутствуют или их крайне мало в организме пациента.

Важнейшим звеном пассивной иммунотерапии является *серотерапия* (от лат. *serum* – сыворотка), которую проводят препаратами *иммунных сывороток*, *иммуноглобулинов* и *антител*.

Соответственно, введение данных средств в организм человека создает *искусственный пассивный иммунитет*.

Препараты на основе иммунных сывороток и антител широко используют для *лечения инфекционных заболеваний* или их *экстренной профилактики* при непосредственной угрозе заболевания.

Иммунные сыворотки (или иначе – *антисыворотки*) получают путем *гипериммунизации* животных (чаще всего – лошадей)

соответствующим антигеном (возбудителем, его токсином или анатоксином). Эти **сыворотки содержат** специфические **антитела** против патогенных агентов или их токсинов.

Иммуноглобулины получают из иммунных сывороток после дополнительной очистки. Они могут быть выделены из нескольких источников – от животных (лошадей) или от людей (доноров крови или здоровых добровольцев).

Иммунные сыворотки делятся на *антитоксические* и *антимикробные*.

К **антитоксическим сывороткам** относятся противодифтерийная и противостолбнячная сыворотки, иммунная сыворотка против ботулотоксина, против токсинов возбудителей клостридиальной анаэробной инфекции, против змеиных ядов и т.д. *Антимикробная сыворотка* может быть использована против сибирской язвы или некоторых других болезней.

Антитоксические сыворотки необходимо вводить как можно раньше от начала заболевания, так как антитела способны нейтрализовать токсин только до его адсорбции на клетках-мишенях. Вводят сыворотки после обязательного предварительного контроля на чувствительность к лошадиному белку (метод Безредки). Контроль проводят путем постановки внутрикожной пробы с лошадиной сывороткой в разведении 1:100 в объеме 0,1 мл. Результат учитывают через 20-30 минут. При отсутствии выраженной кожной реакции вводят необходимую дозу сыворотки.

Терапия лошадиной иммунной сывороткой может вызвать серьезные осложнения во время проведения курса лечения. Это связано с чужеродностью вводимых белков. В ответ на введение белков сыворотки лошади могут развиваться анафилактические реакции или сывороточная болезнь.

Для предотвращения неблагоприятных эффектов введение очищенных иммуноглобулинов вместо сыворотки является более предпочтительным. В частности, лошадиный антирабический гамма-глобулин вводят вместе с вакциной против бешенства для экстренной профилактики данного заболевания.

В настоящее время для проведения иммунотерапии чаще всего применяют **иммуноглобулины** (*гамма-глобулины*) человеческого происхождения. Их получают из крови доноров и назначают в лечебных и профилактических целях против кори, полиомиелита, вирусного гепатита А и В, для лечения стафилококковых инфекций (против стафилококкового экзотоксина) и т.д.

Полученные таким образом иммуноглобулины, как правило, образуют много мельчайших агрегатов, и это может привести к возникновению нежелательных (в т.ч., псевдоаллергических) реакций. Для их предотвращения донорские иммуноглобулины вводят внутримышечно.

Препараты *иммуноглобулинов для внутривенного введения* лишены указанных недостатков. В процессе выделения их подвергают тщательной многоэтапной очистке. Итоговый объединенный препарат содержит иммуноглобулины, полученные от тысяч доноров.

Иммуноглобулины для внутривенного введения имеют достаточно высокие титры противoinфекционных антител. Они могут быть использованы для лечения многих тяжелых заболеваний, в том числе аутоиммунной тромбоцитопении, глубоких иммунодефицитов (агаммаглобулинемии Брутона и др.), острых инфекций и сепсиса.

Самые последние достижения в иммунотерапии связаны с внедрением в медицинскую практику *терапевтических моноклональных антител (МАТ)*. Они открыли новые перспективы в борьбе с онкопатологией и аутоиммунными заболеваниями человека. Из-за их строгой специфичности и избирательности лечение терапевтическими моноклональными АТ получило название «*целевая (или таргетная) терапия*».

Тем не менее, на пути их внедрения исходно было много трудностей, так как стандартные мышинные моноклональные антитела быстро вызвали иммунный ответ при введении в организм человека. Таким образом, процедура «*гуманизация*» моноклональных антител стала обязательной в процессе их получения. С этой целью в молекуле антитела аминокислотные последовательности мышинового происхождения заменяют человеческими. Это может быть сделано методами генной инженерии, например, с помощью создания фаговых библиотек, включающих вариабельные участки АТ человека вместе с их активными центрами (метод *фагового дисплея*). Аналогичным образом могут быть получены «гуманизированные» константные участки антител, которые затем «сливают» с вариабельными частями генно-инженерными методами.

В настоящее время в клинической практике используется широкая панель терапевтических моноклональных антител, которая постоянно пополняется. Примерами таких МАТ в лечении онкопатологии являются *трастузумаб* (моноклональное антитело

против рецептора клеток аденокарциномы молочной железы) и *ритуксимаб* (анти-CD20-мАТ), применяемый для лечения лимфом и аутоиммунных заболеваний. Для терапии аутоиммунных болезней используются и другие высокоэффективные мАТ, в частности – *инфликсимаб* (моноклональное антитело против альфа-ФНО) и *тоцилизумаб* (моноклональное антитело, направленное против рецептора для ИЛ-6). Завершаются клинические испытания многих других мАТ к цитокинам (ИЛ-17, ИЛ-5) и их рецепторам.

Учебное издание
Генералов Игорь Иванович,
Новиков Дмитрий Кузьмич,
Железняк Наталья Васильевна

ОСНОВЫ ИММУНОЛОГИИ

Учебное пособие

Редактор И.И. Генералов
Художник Л.М. Романовская
Компьютерная верстка Ю.С. Лоскутова

Подписано в печать Формат бумаги 64х84 1/16
Бумага типографская №2. Гарнитура Таймс. Усл. печ. листов 6,5
Уч.-изд. л. Тираж ____ экз. Заказ №
Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный
медицинский университет»
ЛИ №02330/453 от 30.12.2013

Отпечатано на ризографе
в Витебском государственном медицинском университете
210602, Витебск, пр. Фрунзе, 27
тел. (8-0212) 261966